



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :
Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou Spécialité :
Écologie

Présentée et soutenue par :
Noelline TSAFACK MENESENG
le : Jeudi 10 Juillet 2014
à : Centre INRA de Toulouse-Auzeville (31)

Titre :
Abondance et origine trophique de la noctuelle de la tomate *Helicoverpa armigera* (Hübner 1808) (Lepidoptera : Noctuidae) dans les paysages ruraux de production cotonnière au Nord Bénin.

Jury

Françoise BUREL	Directrice de recherche CNRS Rennes France	Présidente du jury
Samuel NIBOUCHE	Chargé de recherche, CIRAD St Pierre, Ile de la Réunion	Rapporteur
Anne LE RALEC	Professeur, AGROCAMPUS OUEST Rennes, France	Rapporteur
Guillaume AMADJI	Maître de conférences, UAC, Cotonou, Bénin	Examineur
Marc DECONCHAT	Directeur de recherche, INRA Toulouse, France	Examineur
Philippe MENOZZI	Chargé de recherche, CIRAD Cotonou, Bénin	Co-directeur de thèse
Annie OUIN	Maître de conférences, INP-ENSAT, France	Directrice de thèse

École doctorale
Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries (SEVAB)

Unité de Recherche
CIRAD Montpellier UPR AIDA
INRA Toulouse UMR 1201 INPT/ENSAT DYNAFOR

Directeurs de thèse :
Annie Ouin, Philippe Menozzi (Co-encadrant)

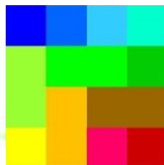


Université
de Toulouse



cirad
LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT

DIVECOSYS



INRA
SCIENCE & IMPACT



THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :
Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou Spécialité :
Écologie

Présentée et soutenue par :
Noelline TSAFACK MENESENG
le: Jeudi 10 Juillet 2014, 14h
à: Centre INRA de Toulouse-Auzeville

Titre :
Abondance et origine trophique de la noctuelle de la tomate *Helicoverpa armigera* (Hübner 1808) (Lepidoptera : Noctuidae) dans les paysages ruraux de production cotonnière au Nord Bénin.

Jury

Françoise BUREL	Directrice de recherche CNRS Rennes France	Présidente du jury
Samuel NIBOUCHE	Chargé de recherche, CIRAD St Pierre, Ile de la Réunion	Rapporteur
Anne LE RALEC	Professeur, AGROCAMPUS OUEST Rennes, France	Rapporteur
Guillaume AMADJI	Maître de conférences, UAC, Cotonou, Bénin	Examineur
Marc DECONCHAT	Directeur de recherche, INRA Toulouse, France	Examineur
Philippe MENOZZI	Chargé de recherche, CIRAD Cotonou, Bénin	Co-directeur de thèse
Annie OUIN	Maître de conférences, INP-ENSAT, France	Directrice de thèse

École doctorale

Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries (SEVAB)

Unité de Recherche

CIRAD Montpellier UPR AIDA
INRA Toulouse UMR 1201 INPT/ENSAT DYNAFOR

Directeurs de thèse :

Annie Ouin, Philippe Menozzi (Co-encadrant)

*À mes mères,
mah Vi, mah G  n   meun chahl   ouu.*

Remerciements

Voici venu le temps d'exprimer ma gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce projet de thèse. J'essaierai de le faire en quelques lignes pour être brève tout en sachant que l'équivalent en lignes de la thèse tout entière ne suffira pas.

Mille mercis

À mes directeurs de thèse, Annie Ouin et Philippe Menozzi. Vous m'avez fait confiance, vous avez cru en moi, vous avez su à la fois me former et me considérer comme collègue quand il le fallait. Nous avons fait face ensemble aux nombreux obstacles rencontrés pendant ces trois années et demi de thèse. Je ne compte plus les mails que nous avons échangés preuve de la communication que nous avons entretenue pendant la thèse. L'écologie spatiale, je l'ai découvert à travers toi Annie, merci. Et j'espère continuer sur cette voie. Le coton est la fibre et le cotonnier la plante, Philippe j'ai compris ! (enfin) merci. Je sais que j'apprendrai encore et encore, mais je sais aussi que j'ai beaucoup appris à vos côtés.

Aux membres de mon comité de thèse : Sergine Ponsard, Aude Vialatte, Thierry Brévault, Philippe Giordanengo et Marc Deconchat. Pendant trois comités de thèse, vous avez su re-orienter, re-structurer, re-cadrer ma thèse, répondre à mes questions, effacer mes doutes et corriger mes erreurs. À travers ces quelques lignes je vous exprime ma gratitude. Marc, en attendant qu'Annie obtienne son HDR, tu as été mon premier directeur de thèse et très impliqué tu l'étais. Merci.

Aux rapporteurs de ma thèse : Merci à Anne Le Ralec et Samuel Nibouche. Anne merci d'avoir accepté sans hésiter de lire et de rapporter mon manuscrit de thèse. Nous t'avons contacté un matin et l'après – midi même tu avais dit oui. Merci Samuel pour tes remarques, vingt ans après ta thèse, la mienne semble être la suite de la recherche de méthodes de lutte contre *H. armigera* en Afrique de l'ouest. J'ai profité de ton expérience, j'espère que beaucoup en profiteront de la mienne.

Aux membres de mon jury : Merci à Françoise Burel, à Guillaume Amadji. Tous les deux je vous ai rencontré à Cotonou, merci pour votre intérêt pour mon travail, pour vos conseils. Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Mon statut d'Allocataire de recherche du CIRAD au début de la thèse m'a permis de rencontrer les membres de l'équipe AIDA (et d'en faire partie) à Montpellier. Merci à tous pour votre accueil. Dès la première rencontre j'ai compris combien je pouvais compter sur vous. Merci pour vos corrections, vos remarques sur mes diaporamas. Merci à Sylvie Perez qui s'occupe très bien des allocataires de recherche, à Jocelyne Sallin et Brigitte Giudicelli pour la rapidité et l'efficacité avec lesquelles vous avez toujours réglé les besoins administratifs et à Régis Goebel, Pierre Silvie, Pascal Marnotte pour l'intérêt que vous avez accordé à ma thèse. Un clin d'œil à Pascal Clouvel, merci pour les conseils de 'winner' et merci pour la bonne humeur que tu sais communiquer!

Aux membres de l'équipe Dynafor. Merci aux permanents, aux nombreuses personnes formidables que j'ai vu passé à Dynafor (stagiaires, thésards, postdocs et CDD). Un merci particulier à Sylvie Ladet, je te décerne le prix « *la perle de Dynafor* ». Avec toi j'ai découvert les bases du logiciel ArcGIS. Pas à pas tu m'as appris à être autonome pour le peu dont j'avais besoin... et j'ai pu à mon tour enseigner les bases d'utilisation de ce logiciel aux étudiants de première année à l'ENSAT.

À mes Co-auteurs (autres que ceux dont j'ai déjà cité les noms): Valérie Soti, Michel Goulard, Jae Kim et Graham Head. Valérie merci pour ta disponibilité, pour ton intérêt pour mon travail et surtout pour ton respect des délais de relecture parfois très courts. Michel grâce à toi, nous avons pu implémenter un glm à une régression des moindres carrés ; merci pour le temps que tu m'as accordé, pour les explications de stat à mes nombreuses questions. Jae and Graham, many thanks for the interest you have given to my work. Without it, gossypol analysis would not have been made. I am grateful for your hospitality during my stay at St. Louis, for the wonderful people that have allowed me to meet and for helpful comments on manuscripts and slides. I had a great stay at st. Louis.

Un grand merci à Jacques Attoumbré. Des heures et des heures nous avons passé au labo à Amiens pour mettre au point les méthodes de détection du gossypol et de la tomatine chez *H. armigera*. Merci pour ta disponibilité, ton intérêt pour mon travail et surtout pour ton enthousiasme !

Un merci particulier à Audrey Alignier. À toi je décerne le prix de « *best co-auteur* ». Tu n'as pas seulement été co-auteur, mais tu as lu et relu mon manuscrit de thèse. Tu as été à la fois une collègue, une amie et même parfois une grande sœur. Merci beaucoup.

Je remercie les stagiaires qui par leur travail ont aidé à améliorer ma thèse. Merci à Anaïs Betbeder et Arnaud Gouda. Votre travail a grandement contribué à mon travail.

Sans les agriculteurs de Kandi, Angaradébou et Donwari nous n'aurions pas pu travailler dans les parcelles de cotonniers. Merci aux nombreux (très nombreux) agriculteurs que j'ai rencontré au nord Bénin. Merci pour les repas, pour les poules, les œufs... Accompagné je l'ai toujours été au Bénin. Que ce soit, la nuit pour les piégeages lumineux, le matin pour les mesures d'infestation, ou l'après-midi pour les relevés d'occupation du sol, Salif, Alim et Feyssal étaient toujours avec moi. Merci beaucoup.

Merci à mes Ami(es), je ne citerai pas de noms, vous vous reconnaitrez: les vieux et les jeunes de Toulouse, ceux de France, du Bénin, des USA, d'Allemagne, du Canada, le Kenyan et ceux du Cameroun vous avez partagé avec moi les bons moments et les moins bons. Merci d'avoir été là vous tous.

Enfin je remercie ma famille (immense !), vous m'avez toujours soutenue, vous avez toujours été fier de moi. À vous je décerne le prix de « *best fan club* ». Par ces quelques lignes, je vous exprime toute ma gratitude. Cette thèse est un peu la vôtre.

Noelline Tsafack

Toulouse le 04 Septembre 2014

Sommaire

Introduction générale.....	1
Partie I : Cadre de la thèse.....	4
Partie II : Origine géographique des individus d' <i>Helicoverpa armigera</i> présents dans le nord bénin et le long d'un gradient latitudinal.....	45
Partie III : Influence du paysage et des pratiques agricoles sur l'abondance des larves d' <i>Helicoverpa armigera</i> dans les parcelles de cotonniers au Nord Bénin	90
Partie IV : Etude des déterminants paysagers de l'abondance et l'origine trophique des adultes d' <i>Helicoverpa armigera</i> dans les parcelles de cotonniers au Nord Bénin.	110
Partie V : Discussion générale et perspectives	148
Conclusion générale	169
Bibliographie	171
Index des figures	186
Index des tableaux	188
Table des matières	189

Avant-propos

Cette thèse comportait dès sa genèse un important volet méthodologique. En effet, j'ai eu recours à la fois à des techniques de chimie, de biochimie, de biologie moléculaire et d'écologie spatiale. Pour chaque discipline, j'ai collaboré avec des chercheurs de structures, de villes et de pays différents. Cela a nécessité que je fasse plusieurs voyages et séjours pour les rencontrer et échanger avec eux. Cet avant-propos a donc pour objectif d'éclairer le lecteur sur le déroulement de la thèse et sur les choix qui ont été faits.

J'ai commencé ce travail de thèse en octobre 2010 sur un financement du Ministère des Affaires Etrangères (MAE) (FSP mobilisateur 2006-43), dans le cadre des activités du Dispositif en Partenariat (DP) DIVECOSYS et après avoir été recrutée par le Cirad en tant qu'allocataire de recherche. Le projet de thèse initial proposait deux grandes parties : une partie de mise au point de méthodes pour la détermination de l'origine géographique et trophique de la noctuelle *Helicoverpa armigera* et une deuxième partie d'utilisation de ces méthodes pour comprendre la dynamique spatiale et temporelle sur des individus piégés dans le Nord-Bénin.

Dans la première partie, il s'agissait de mettre au point d'une part les méthodes d'analyse de la flore bactérienne et des isotopes stables d'hydrogène pour déterminer l'origine géographique et d'autre part les méthodes d'analyse des marqueurs biochimiques spécifiques de plantes hôtes pour déterminer l'origine trophique des insectes. C'est cette première partie qui m'a permis de collaborer avec des chercheurs de disciplines différentes. En effet, j'ai suivi un stage de formation de quatre semaines concernant l'analyse de la flore bactérienne chez *H. armigera* dans le laboratoire de l'unité mixte de recherche (UMR) QUALISUD sous la supervision de Didier Montet à Montpellier/France en Janvier et Février 2011. Le choix de ce laboratoire a été fait en raison des travaux qu'ils mènent pour connaître l'origine géographique des denrées alimentaires et de poissons en analysant la composition de leur flore bactérienne. Aly F. El Sheikha, dans le cadre de sa thèse au sein de cette UMR a amélioré cette méthode et l'a utilisée pour connaître l'origine géographique de fruits. Avec son aide, la méthode a été mise au point dans le laboratoire de biotechnologie d'AfricaRice à Cotonou pour analyser la flore bactérienne d'*H. armigera*. Je m'y suis rendu à chacun de mes deux séjours au Bénin en 2011 et 2012.

Par ailleurs, les analyses des isotopes stables d'hydrogène hébergés par les insectes ont été faites par la société ISOANALYTICAL, basée en Grande Bretagne.

Par la suite, pour déterminer l'origine trophique notre choix d'outils s'est porté sur les isotopes stables de carbone et les marqueurs biochimiques des plantes hôtes. Les analyses des isotopes stables de carbone ont été réalisées sur la plateforme isotopique *SHIVA* de l'ENSAT où j'ai préparé plus de 1500 échantillons durant ma thèse.

Par ailleurs, afin d'obtenir des individus témoins, je suis allé à Garoua/Cameroun en Mai/Juin 2011 dans le laboratoire d'élevage d'insectes de l'IRAD (Institut de recherche agricole pour le développement) dirigé par P. Prudent, entomologiste du Cirad où je me suis familiarisée avec l'élevage d'*H. armigera* sur différentes plantes hôtes.

Notre choix d'outil pour déterminer l'origine trophique d'*H. armigera* s'est aussi porté sur les marqueurs de plantes hôtes, en l'occurrence le gossypol, marqueur spécifique du cotonnier et la tomatine, marqueur spécifique de la tomate. Les travaux de mise au point de la méthode d'analyse de la tomatine et du gossypol chez *H. armigera* ont débuté en Juillet 2011 à Amiens à l'Université de Picardie Jules Verne, dans le laboratoire Biologie des Plantes et Contrôle des Insectes Ravageurs (UPRES EA 3900) dirigé par P. Giordanengo avec l'aide de J. Attoumbré et se sont poursuivis en 2012 (Février/Mars). En 2011, j'ai séjourné un mois et en 2012 cinq semaines. Cependant, en raison des difficultés méthodologiques concernant le gossypol et le manque de disponibilité de J. Attoumbré, malgré tout son intérêt pour la question, nous avons pris contact avec un autre laboratoire à Gembloux (Unité de recherche de Chimie générale et organique de la faculté universitaire des sciences agronomiques) dirigé par M. L. Fauconnier, puis un deuxième laboratoire de Gembloux (Unité physico-chimie et résidus des produits phytopharmaceutiques et des biocides) dirigé par O. Pigeon, pour finaliser la mise au point méthodologique. Par ailleurs, nous avons aussi tenté de prendre contact avec G. Head, chercheur de la compagnie MONSANTO à St. Louis/USA qui a accepté d'analyser le gossypol dans d'autres échantillons. Ainsi, en Juillet 2013, j'ai envoyé 1272 individus d'*H. armigera* à St. Louis pour les analyses de gossypol. J'ai également visité le laboratoire en Novembre 2013, juste avant le colloque de l'ESA 2013 (Entomological society of America) qui s'est tenu à Austin/USA et auquel j'ai participé. Il nous a donc fallu 2 ans pour identifier un laboratoire susceptible d'analyser le gossypol dans nos échantillons.

Les travaux sur le terrain se sont déroulés sur deux années consécutives 2011 et 2012 dans le nord du Bénin, dans la région de Kandi près d'Angaradebou dans le nord du Bénin où j'ai résidé 3 mois chaque année.

La valorisation de ce travail de thèse s'est fait à travers des communications orales. La première a été faite en juillet 2012 à Lleida en Espagne lors du colloque de l'IOBC (Organisation Internationale de Lutte Biologique et intégrée) sous le thème « Landscape

management for functional biodiversity. La deuxième a été faite aux Etats-Unis durant le congrès de l'ESA à Austin (10-13 Novembre 2013) et la troisième à l'atelier du Dispositif en Partenariat DICOVESYS en décembre 2013 à Cotonou.

Cette valorisation s'est aussi traduite par la publication d'un article dans un journal à comité de lecture qui a été publié dans International Journal of Pest Management. Un deuxième article a été soumis à Entomologia Experimentalis et Applicata. Et le dernier article été soumis à la revue Basic and Applied Ecology.

Tableau chronogramme récapitulant le déroulement de la thèse ainsi que mes déplacements. Seuls les points marquants sont représentés dans le tableau.

N° mois	2010	2011	2012	2013	2014
1	x	Montpellier/ France: Formation biologie moléculaire/ Analyse de la flore bactérienne	Toulouse/ France: Analyse des isotopes de carbone	Toulouse/ France: Analyse des isotopes de carbone	Rédaction thèse et Cours ENSAT/poste ATER
2	x		Amiens/ France: Analyse tomatine et gossypol	Toulouse/ France: Analyse des isotopes de carbone	
3	x			Toulouse/ France: Analyse des isotopes de carbone	
4	x	Garoua/Cameroun: élevage individus témoin		Soumission article 1	
5	x		Lleida/ Espagne: Colloque OIBC, Communication orale		Dépôt thèse
6	x			Resoumission article 1	Soumission article 2 et 3 et Cours ENSAT/poste ATER
7	x	Amiens/ France: Analyse tomatine et gossypol		Envoi échantillon à St. Louis	Soutenance thèse (le 10/07)
8	x	Préparation protocole terrain	Préparation protocole terrain		
9	x	Kandi/Bénin: Campagne de terrain	Kandi/Bénin: Campagne de terrain	Cours ENSAT/ poste ATER	
10	Rédaction projet de thèse			Article 1 Accepté	
11				St. Louis/ USA: Visite chez MONSANTO et Austin: Colloque ESA, Communication orale	
12				Toulouse/ France: Analyse des isotopes de carbone	

Introduction générale

Répondre aux besoins en nourriture et en fibres de la population humaine de plus en plus croissante, tel a été l'objectif principal de la révolution verte à la fin de la deuxième guerre mondiale. La révolution verte via l'intensification des cultures, la sélection variétale, la mécanisation de l'agriculture et l'apport massif en intrants chimiques a largement amélioré la productivité des agro-systèmes (Kafadaroff, 2008). Cependant, cette réussite s'est accompagnée de conséquences alarmantes comme des problèmes de pollution de l'air, de l'eau et des sols (Kibblewhite et al. 2008 ; Tilman et al. 2002). En effet, l'application démesurée des produits chimiques a conduit à un déséquilibre des écosystèmes. La santé des agriculteurs de même que celles des consommateurs des produits issus de cette agriculture s'est vu altérée (Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2006). L'apparition des gènes de résistance aux pesticides chez les ravageurs fait partie des nombreuses conséquences liées à l'application excessive des pesticides. Les défis actuels de la nouvelle révolution verte allient productivité et durabilité. Il s'agit de concevoir et de mettre au point des itinéraires techniques et des systèmes de cultures à la fois productifs et économes en pesticides (Conway et al. 1994).

La gestion intégrée des ravageurs, en accord avec les objectifs de la nouvelle révolution verte, propose des méthodes alternatives de lutte aux pesticides soucieuses de préserver la qualité de l'environnement. Plusieurs méthodes de lutte biologique tenant compte de l'écologie des ravageurs et du réseau trophique dont ils font partie, ont montré que l'apport de prédateurs et de parasitoïdes (ennemis naturels) dans une parcelle réduisait significativement l'abondance du ravageur ciblé (Tscharntke, 2000). La lutte biologique par conservation et gestion des habitats propose de préserver ou de mettre en place des habitats favorables aux ennemis naturels qui par rétrocontrôle positif contribueraient à une régulation naturelle des ravageurs. En amont de cette méthode de lutte, les connaissances traitant de la capacité de déplacement du ravageur, de son mode d'utilisation de la ressource sont des outils fondamentaux pour la mise en place de telles stratégies. Pour des ravageurs polyphages, il est nécessaire de développer des outils permettant de déterminer leur origine trophique ou leur origine géographique afin de comprendre comment sont utilisées les ressources dans l'espace et dans le temps. Ceci permettrait in fine d'organiser le parcellaire agricole de façon à optimiser la

régulation naturelle et donc, de limiter les dégâts causés par les ravageurs (Prasifka et al 2004).

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à *Helicoverpa armigera* (Hübner 1808) (Lepidoptera : Noctuidae), un ravageur des plus redoutés du cotonnier en Afrique et partout dans l'ancien monde. *H. armigera* est un ravageur polyphage. En plus du cotonnier, il infeste aussi les parcelles de maïs, sorgho, gombo et les cultures maraîchères comme la tomate, piment, haricot vert. On le rencontre aussi sur de nombreuses plantes spontanées. C'est un ravageur à grande mobilité qui peut se déplacer sur plusieurs centaines de kilomètres (Feng et al. 2009) ou sur de courtes distances de l'ordre de quelques kilomètres (Lu et Baker. 2013). C'est également un diapausant facultatif : son cycle de vie peut être continu avec une courte période de vie ralentie si les conditions environnementales et de ressources sont favorables ou faire une longue diapause si les conditions sont défavorables. En Afrique sub-saharienne, la lutte chimique est pratiquée de façon intense et devient de moins en moins efficace du fait de l'apparition des gènes de résistance à certains insecticides (pyréthrinoides) chez cette noctuelle (Brevault et al. 2008). Nous nous sommes proposé dans ce travail de thèse de produire des connaissances sur ce ravageur permettant de contribuer à la mise en place de stratégies de régulation naturelle durables. Nous nous sommes intéressés à la nuisibilité d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonniers en identifiant les structures paysagères qui leur étaient défavorables.

Dans ce travail de thèse qui comprend cinq parties, la première partie de ce travail rassemble des références bibliographiques qui montrent d'une part les limites de la révolution verte, d'autre part en quoi des connaissances sur les ravageurs sont nécessaires pour mettre en place des stratégies (de gestion des ravageurs) durables et respectueuses de l'environnement. La démarche générale de travail ainsi que la méthodologie adoptée sont ensuite présentées. Dans la deuxième partie, je traite des méthodes de détermination de l'origine géographique d'*H. armigera*. J'expose dans cette partie les résultats d'un travail de mise au point méthodologique de deux outils innovants pour la détermination de l'origine géographique des populations d'*H. armigera*. Dans la troisième partie, je présente les résultats d'une étude visant à identifier les déterminants de l'infestation larvaire d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier à l'échelle de la parcelle et à l'échelle du paysage. Dans la quatrième partie, je présente tout d'abord les résultats de la mise au point méthodologique de deux outils de détermination de l'origine trophique. Puis, les résultats d'une étude sur les déterminants paysagers de l'abondance et de l'origine trophique des adultes d'*H. armigera* piégés selon un gradient de diversité du paysage

et à trois échelles concentriques. Les différents résultats et les avancées à la fois méthodologiques et conceptuelles qui en découlent sont synthétisés et discutés dans la partie cinq afin de replacer le sujet de thèse dans le contexte de la recherche agronomique. Enfin, des perspectives pour la gestion intégrée d' *H. armigera* sont proposées. Les différentes parties de la thèse sont illustrées dans la figure 1.

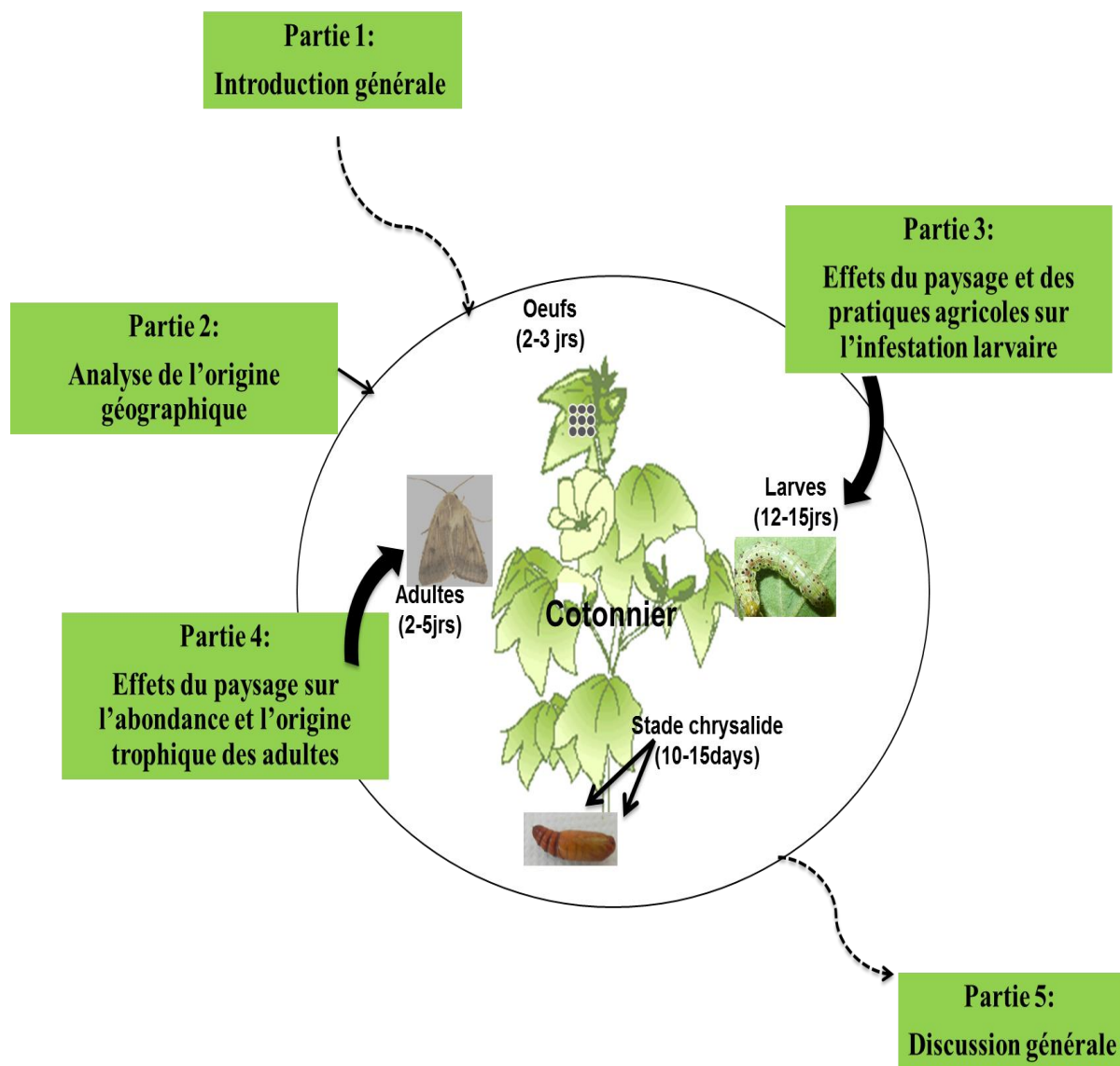


Figure 1. Schéma présentant les cinq parties de la thèse en relation avec le cycle de vie d' *H. armigera*.

Partie I : Cadre de la thèse

I-1 Contexte de l'étude

I-1-1 D'une révolution verte...

À la fin de la deuxième guerre mondiale, afin de répondre aux besoins en aliments et en fibres, l'agriculture dans le monde connaît de profondes modifications. Le défi d'augmenter le rendement des cultures a été relevé grâce à l'intensification des systèmes agricoles. Cette intensification passe par l'amélioration génétique des semences, la mécanisation des outils, l'irrigation, l'apport d'engrais chimiques et de produits phytosanitaires pour améliorer la lutte contre les ravageurs et les pathogènes (Letourneau et Van Bruggen 2006 ; Kafadaroff 2008). Cette agriculture intensive requiert des investissements importants et une utilisation accrue d'intrants agricoles (énergie, engrais, matériel). En Afrique subsaharienne, dans les années 60, la révolution verte est née avec le même objectif principal: améliorer rapidement le rendement des cultures (Courade, 1987 ; Bray 1994). La protection des cultures contre les ravageurs se fait via une agriculture intensive qui repose sur l'utilisation fréquente de pesticides appliqués par traitement préventif le plus souvent sur calendrier sans nécessaire contrôle au champ de la présence avérée de ravageurs (Michel et al. 2000, Guerrin, 2013). La révolution verte a également favorisé un contexte socio-économique où le marché des intrants chimiques (exportation, importation) a été libéralisé et facilité sur la scène internationale (Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2006).

Sans éradiquer la faim, la révolution verte a contribué à améliorer la production des aliments et des fibres. En Afrique, la production de céréales (riz, blé et maïs) a augmenté de 75% entre 1983 et 1993 grâce à la révolution verte. La révolution verte a contribué à la baisse des prix des denrées alimentaires, à augmenter les revenus des agriculteurs dans les zones rurales (Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2006). Cependant, depuis quelques années, l'agriculture intensive suscite des inquiétudes quant aux conséquences observées. Tout d'abord, l'intensification des systèmes agricoles caractérisée par la concentration des cultures sur de grandes surfaces contribue à réduire la biodiversité (Matson et al. 1997), ce qui favorise la présence des ravageurs (Wilby et Thomas, 2002 ; Matson et al. 1997). En effet, la réduction des espaces naturels au profit des parcelles agricoles défavorise la présence des ennemis naturels et par conséquent défavorise les services écosystémiques de régulation naturelle des ravageurs. Ensuite, l'utilisation fréquente des intrants cause des

dégâts à la fois sanitaires et environnementaux: la santé des agriculteurs et des consommateurs des produits issus de l'agriculture conventionnelle est altérée (Matson et al. 1997 ; Tilman et al. 2002). Les sols sont dégradés et pollués (Kibblewhite et al. 2008). La qualité des masses d'eau, sources d'eau potable pour les populations (nappes phréatiques et rivières) est dégradée (Tilman et al. 2002). Les gènes de résistance aux pesticides chez de nombreuses espèces de bioagresseurs sont également apparus et maintenus à cause de l'exposition fréquente des populations aux pesticides (McKenzie et Batterham 1998). Des études ont également montré que l'utilisation des pesticides dans l'agriculture contribuait aux émissions des gaz à effet de serre (Tilman et al. 2001).

I-1-2 ... A une révolution doublement verte.

La prise de conscience des conséquences environnementales a amené la communauté scientifique, les agriculteurs ainsi que les pouvoirs publics à rechercher des stratégies alternatives à l'utilisation des intrants chimiques, respectueuses de l'environnement et de la santé des consommateurs: une approche de lutte durable et efficace contre les bioagresseurs. Dans les années 1990, l'agriculture mondiale s'est vue assignée de nouveaux objectifs: i) améliorer la productivité pour faire face à la démographie mondiale toujours croissante (avec une prévision de 9 milliards d'humains en 2050, il faudra augmenter les rendements de 60%), ii) réduire et/ou raisonner l'utilisation des intrants chimiques, iii) produire de nouvelles semences génétiquement résistantes aux ravageurs tout en iv) faisant face à la perte croissante de la surface agricole mondiale (par urbanisation). Ces nouveaux défis sont regroupés sous le terme de « nouvelle Révolution Verte » ou encore de « révolution doublement verte » imaginé par Conway et al. (1994). Elle implique alors à la fois productivité et durabilité écologique, économique et sociale (Griffon, 2002). Il s'agit de concevoir et de mettre au point des itinéraires techniques et des systèmes de cultures à la fois productifs et économes en pesticides. La révolution doublement verte a été adoptée par plusieurs pays notamment la France. Le plan « Ecophyto 2018 » illustre cette prise de conscience. L'objectif est de réduire de 50% d'ici 2018 l'utilisation des produits chimiques dans le système agricole français. En Afrique subsaharienne, la révolution doublement verte est illustrée par la mise en place des seuils d'administration des pesticides. Des études ont montré que les objectifs de la révolution doublement verte pouvaient aussi être réalisés en considérant les régulations naturelles dans l'agrosystème. Ceci revient à s'intéresser aux relations trophiques entre organismes et par

conséquent à leurs interactions ; les principes de l'écologie sont alors appliqués à l'agrosystème.

De la nécessité de respecter l'environnement tout en améliorant la productivité du système agricole est né le terme agroécologie. Wezel et al. (2009) situe les débuts de l'utilisation du terme agroécologie vers le début des années 1930. La définition a cependant évolué. Gliessman (1998) définit l'agroécologie comme l'application des concepts et principes de l'écologie pour l'étude, la conception et la gestion durable des agro-systèmes (*the application of ecological concepts and principles to the design and management of sustainable agroecosystems*). Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de l'agro-écologie. Via une approche interdisciplinaire, nous avons pour objectif de contribuer à la lutte contre un ravageur de cotonnier dans le contexte de l'Afrique de l'ouest.

I-1-3 Vers des méthodes alternatives aux pesticides: les services écosystémiques

Le sommet de la terre à Rio de Janeiro en juin 1992 a posé les bases des notions de « développement durable » et de « services écosystémiques ». Les services écosystémiques sont les bénéfices que les Hommes tirent directement ou indirectement des fonctions de l'écosystème « *the benefits human populations derive, directly or indirectly, from ecosystem functions*. ». En prenant en compte les bénéfices économiques et écologiques que les services écosystémiques apportent à la société humaine, une commission nommée Evaluation des Ecosystèmes pour le Millénaire (MEA:Millenium Ecosystem Assessment) a été créée par l'Organisation des Nations Unies à la fin des années 90. Le rapport du MEA en 2005 classe les services écosystémiques en quatre grands groupes (Fig. 2): les services de support, les services culturels et sociaux, les services d'approvisionnement, et les services de régulation. Les services de support sont ceux qui sont nécessaires pour la production des autres services, ce qui peut être illustré par la production de l'oxygène atmosphérique. Les services culturels sont ceux qui contribuent au bien-être (non-matériel) de l'Homme, qui peuvent être illustrés par les valeurs esthétiques des écosystèmes, ce qui enrichit la valeur touristique d'une région donnée. Les services d'approvisionnement sont les bénéfices matériels obtenus par le biais d'exploitation des écosystèmes notamment les produits (nourriture et fibres) obtenus des agroécosystèmes. Les services de régulation sont les bénéfices que les Hommes tirent de la

régulation naturelle des vecteurs de maladies, des flux d'eaux ou des populations de prédateurs et de proies.

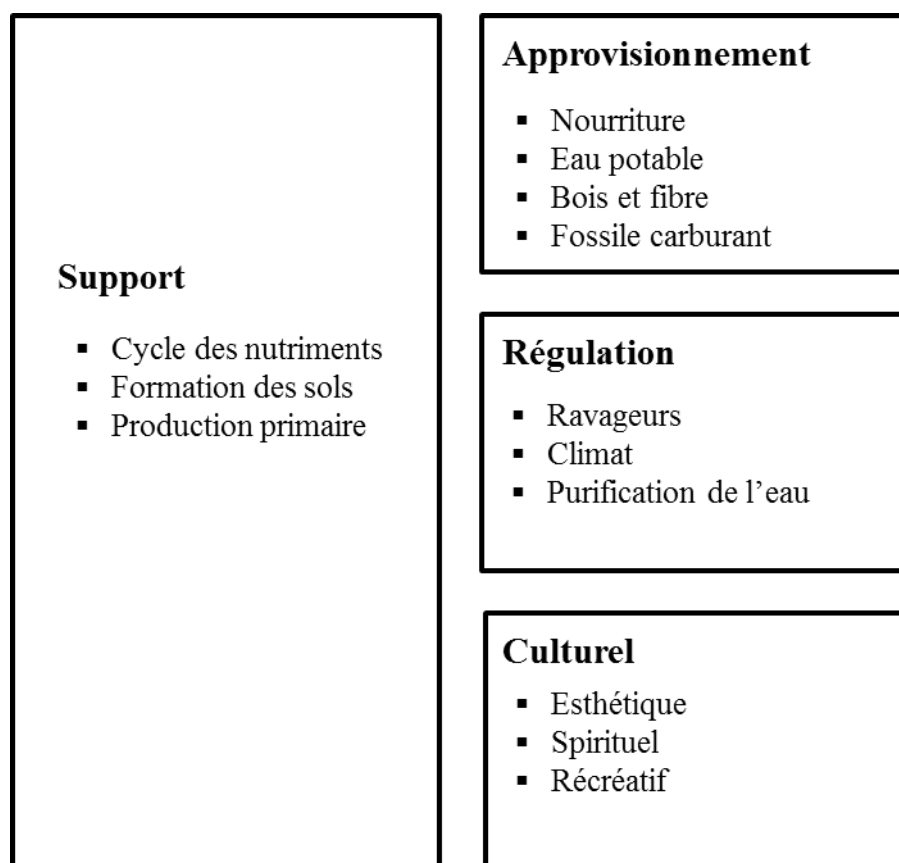


Figure 2. Services écosystémiques décrits dans le rapport du Millenium Ecosystem Assessment, 2005.

Parmi les services écosystémiques, les services de régulation sont ceux qui permettent une régulation des ravageurs. En effet, en favorisant les prédateurs naturels dans les agro-systèmes, l'abondance des ravageurs peut être maintenue à un seuil économiquement viable pour l'agriculture. Ce service offre ainsi une alternative à la lutte chimique contre les ravageurs dans les agro-systèmes. C'est dans ce cadre qu'interviennent les principes de la lutte biologique. L'Organisation Internationale de la Lutte Biologique et intégrée contre les animaux et les plantes nuisibles (OILB) regroupe toutes ces stratégies sous le concept de gestion intégrée des ravageurs « Integrated Pest Management ». La gestion intégrée des ravageurs est définie comme l'application d'un ensemble de méthodes qui respectent les

exigences économiques, écologiques et toxicologique pour maintenir la présence des organismes nuisibles en dessous d'un seuil de dommages économiquement inacceptables. Cette gestion donne la priorité aux facteurs naturels de maîtrise des ravageurs.

La gestion intégrée des ravageurs regroupe plusieurs méthodes (Fig. 3) dont la lutte biologique. La lutte biologique est une méthode de lutte où les ennemis naturels sont utilisés pour réduire la présence des ravageurs. Eilenberg et al. (2001) décrivent quatre types de lutte biologique : la lutte biologique classique, la lutte biologique par inondation, par inoculation et la lutte par conservation et gestion des habitats (Fig. 3).

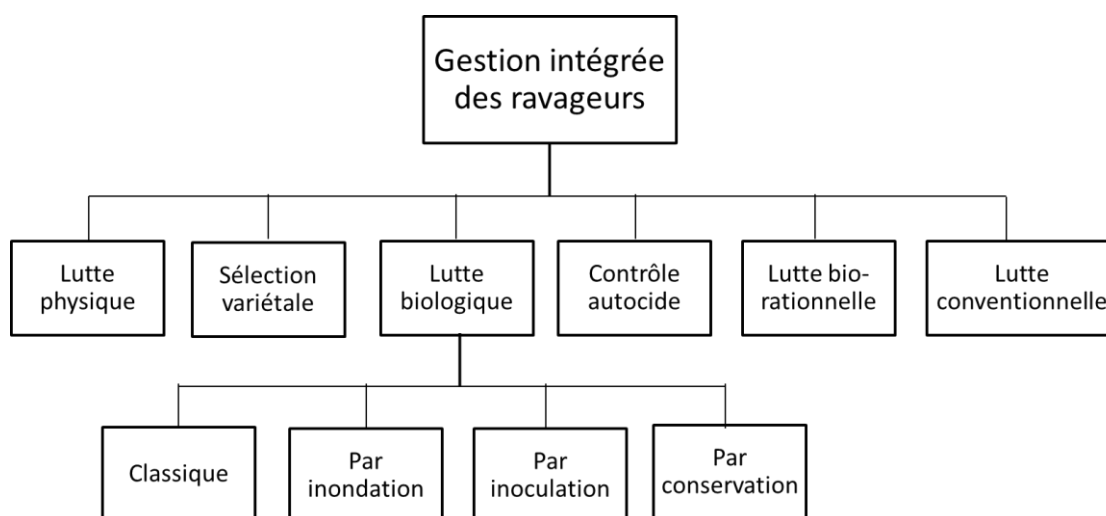


Figure 3. Présentation des quatre types de lutte biologique parmi les différentes stratégies de gestion intégrée des ravageurs. (Figure modifiée d'Eilenberg et al. 2001).

La lutte biologique classique est définie comme l'introduction intentionnelle d'un organisme exotique pour une maîtrise biologique à long-terme ou permanent d'un autre organisme nuisible. Greathead (1994) dans le livre *History of biological control* présente plusieurs exemples de lutte biologique dont l'un des plus anciens est l'introduction à l'île Maurice d'un parasitoïde (*Cotesia flavipes*), ennemi naturel du foreur de la canne à sucre (*Chilo sacchariphagus*). La lutte biologique par inondation consiste en un lâcher massif des ennemis naturels dans une parcelle pour une régulation immédiate d'un ravageur ciblé. Dans la lutte biologique par inoculation (Fig. 4), la lutte biologique est assurée par les individus lâchés en espérant leur multiplication pour assurer sur deux à trois génération (sans forcément être permanente) une régulation des ravageurs. Eilenberg et al. (2001) précisent que la différence entre la lutte biologique par inondation et la lutte biologique par inoculation est que pour la première, seuls les individus lâchés œuvrent pour réguler les ravageurs alors que dans le cas

de la lutte biologique par inoculation, les individus lâchés sont impliqués aussi bien que les 2^{ème} et 3^{ème} générations de la population lâchée dans la parcelle au départ.

Contrairement aux trois méthodes de lutte biologique citées ci-dessus, la lutte biologique par conservation et gestion des habitats a pour cible directe les ennemis naturels et pour cible indirecte les ravageurs (Fig. 4). Dans un premier temps, Il s'agit en effet de modifier l'environnement ou les pratiques culturales dans le but de protéger ou attirer les ennemis naturels pour une régulation naturelle et durable des ravageurs «*Modification of the environment or existing practices to protect and enhance specific natural enemies or other organisms to reduce the effect of pests*». L'introduction des infrastructures agro-écologiques pour l'agrosystème est un bon exemple de lutte biologique par conservation des habitats. L'étude de Schmidt et al. (2004) a montré que la présence de structures empêchant le déplacement des ennemis naturels favorise près de douze fois plus l'abondance de pucerons dans un champ de blé contrairement à une parcelle sans structures bloquant le déplacement des ennemis naturels entre les parcelles. De même, Baudry et al. (2000) ont montré l'importance des haies dans les agrosystèmes. Dans un second temps, la lutte biologique par conservation et gestion des habitats s'intéresse indirectement aux habitats défavorables aux ravageurs. Il s'agit dans ce cas de limiter le ravageur en amont du réseau trophique dans lequel il s'insère en réduisant les conditions favorables à son maintien dans l'agrosystème. Ainsi, la lutte biologique par conservation et gestion des habitats peut s'appliquer i/ à l'échelle de la parcelle : les études sont axées sur les pratiques agricoles favorables aux ennemis naturels. Par exemple la polyculture est privilégiée à la place des monocultures, dans le but de favoriser la biodiversité notamment celle des ennemis naturels, ii/ à l'échelle du paysage : plusieurs études ont montré que le paysage (la configuration, la composition, la complexité, la connectivité et/ou la fragmentation du paysage) influençait l'abondance des ravageurs et/ou des ennemis naturels. Ce travail de thèse s'inscrit dans cette dernière approche. Nous identifierons dans cette étude les structures du paysage qui sont défavorables à un ravageur.

Certes, la lutte biologique par conservation et gestion des habitats apporte une réelle plus-value pour la lutte contre les ravageurs. Des études montrent néanmoins qu'elle présente quelques inconvénients. En effet, introduire des infrastructures agro-écologiques réduit la surface agricole utile (Landis et al. 2000) ; De même la polyculture qui consiste à diversifier les cultures sur des petites surfaces favorise la compétition entre les espèces et donc une perte de rendement (Andow et al. 1991a).

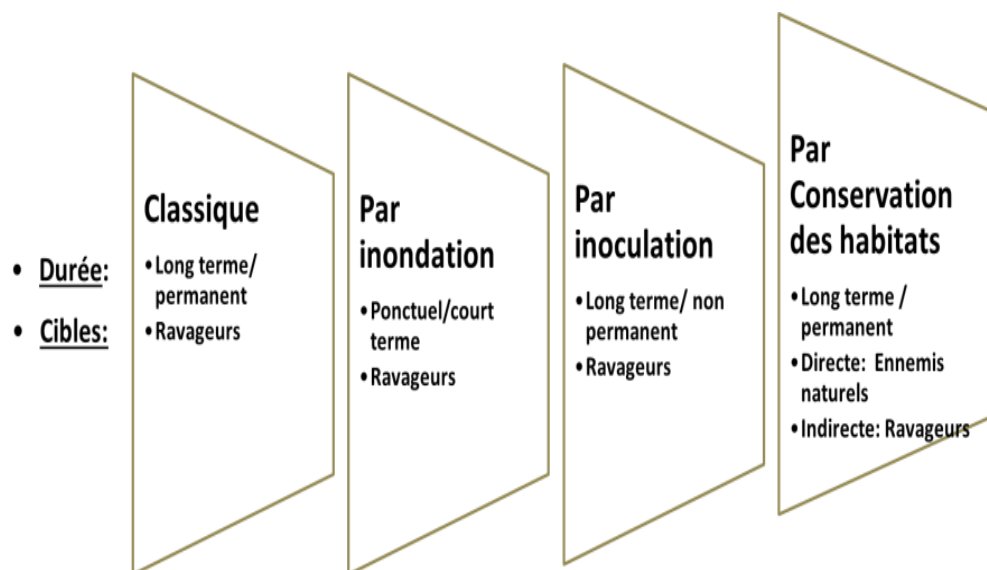


Figure 4. Synthèse des quatre types de lutte biologique décrits par Eilenberg et al. 2001.

Pour résoudre ces inconvénients, Prasifka et al. (2004) proposent une organisation stratégique du parcellaire agricole pour favoriser une régulation naturelle des ravageurs par ennemis naturels sans nécessairement réduire la surface agricole utile (Fig. 5). Cette organisation du parcellaire est alors fonction des foyers locaux des ennemis naturels afin de favoriser une colonisation massive et précoce des parcelles de culture à forte valeur agronomique par les ennemis naturels avant toute infestation irréversible des ravageurs.

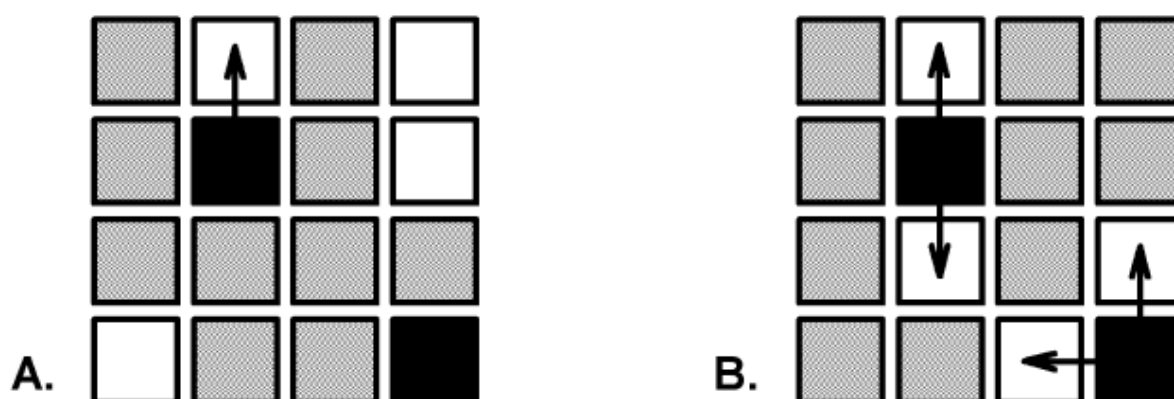


Figure 5. Organisation du parcellaire selon Prasifka et al. 2004. (A) représentation arbitraire et (B) représentation stratégique. Les carrés blancs représentent les parcelles de cultures d'intérêt, les carrés noirs représentent les foyers des ennemis naturels et les flèches indiquent les mouvements des ennemis naturels vers les parcelles de cultures d'intérêt et les carrés gris, les autres cultures.

I-2 Contexte scientifique

I-2-1 Les propriétés écologiques du paysage

D'un point de vue général, le paysage est défini comme l'agencement dans un espace limité des éléments d'un relief. D'un point de vue écologique, Antrop (2000) définit le paysage comme une structure complexe dans laquelle les éléments de l'écosystème interagissent pour former un ensemble (« *A complex structure in which plants, animals, the elements, ecosystem processes, humans and human infrastructure all interact to create a whole* »). Dans ce cadre, la présence/l'abondance d'une espèce dans un paysage donné s'explique par ses interactions avec les éléments du paysage. Il est ainsi clair que ce sont les caractéristiques du paysage même qui gouvernent les flux des éléments et des organismes qui le composent. L'objectif de l'écologie du paysage est donc de comprendre comment la mosaïque du paysage affecte les processus écologiques (Forman 1995). Dans la littérature, plusieurs termes sont utilisés pour décrire les caractéristiques d'un paysage. La composition et la configuration du paysage vont définir le degré de fragmentation des habitats et la connectivité paysagère.

La composition du paysage désigne la proportion en surface des différents éléments d'un paysage. Cette notion permet de décrire la diversité ou l'hétérogénéité d'un paysage. Plusieurs indices sont proposés pour mesurer la diversité dont les plus communs sont ceux de Shannon-Weaver (1949) et de Simpson (1949). L'indice de diversité de Simpson représente la probabilité que deux entités sélectionnées aléatoirement dans le paysage soient du même type. Il varie entre 0 et 1 ; 0 représentant l'indice de diversité maximale et 1 l'indice de diversité minimale. L'indice de Shannon prend en compte le nombre d'éléments observés et la proportion qu'occupent ces derniers dans le paysage. **La configuration du paysage** désigne l'agencement des éléments ou tâches dans l'espace. Des études ont montré que l'agencement des tâches dans un paysage influençait aussi bien la distribution des populations d'espèces végétales (Kolb et Diekmann 2004) que celle des populations d'espèces animales (Quesnelle et al. 2013 chez les tortues et les oiseaux de zones humides). **La fragmentation de l'habitat** fait référence au partitionnement spatial d'un habitat en petits fragments d'habitats sans continuité (« *a large expanse of habitat is transformed into a number of smaller patches of smaller total area, isolated from each other by a matrix of habitats unlike the original* » Wilcove et al. 1986). Fahrig (2003) précise que la fragmentation du paysage peut être

observée sous deux angles comme un processus au cours duquel un paysage perd en habitat ou bien changement de configuration. D'un point de vue général, plusieurs auteurs ont montré que la fragmentation du paysage considérée sous l'angle de la perte d'habitat influençait négativement la biodiversité (Kruess et Tscharntke. 1994, Tscharntke et al. 2002, Fahrig 2003). A l'inverse de la fragmentation du paysage, **la connectivité du paysage** désigne la capacité d'un paysage à faciliter le déplacement d'un organisme (Goodwin et Fahrig 1998). La perte de connectivité dans un paysage raccourcirait ou briserait les chaînes trophiques. Ceci entraîne une minimisation du rôle des ennemis naturels notamment la prédation des herbivores qui peut être altérée du fait d'une perte de connectivité dans un paysage (Kruess et Tscharntke, 1994). La notion de **complexité du paysage** réunit celle de la composition et la configuration du paysage. La complexité du paysage est mesurée en fonction de la proportion de surface non-cultivée ou d'espaces naturels qui compose le paysage (Roschewitz et al. 2005 ; Bianchi et al. 2006, Chaplin-Kramer et al. 2012). Ces même auteurs ont montré qu'un paysage complexe favorisait les ennemis naturels et par rétrocontrôle positif une régulation naturelle des ravageurs.

Dans le cadre de ce travail, nous utiliserons les termes « hétérogénéité du paysage » pour décrire la diversité des plantes observés dans le paysage calculé à l'aide de l'indice de Shannon et « complexité du paysage » pour décrire la proportion de végétation naturelle dans le paysage. Nous avons également considéré la composition du paysage pour étudier les effets de chaque structure paysagère sur l'abondance d'un ravageur.

I-2-2 Approche paysagère de la lutte contre les ravageurs: Effet du paysage sur les ravageurs et leurs ennemis naturels

Le concept d'ingénierie écologique est défini comme l'application des principes de l'écologie pour gérer des milieux et concevoir des aménagements durables, adaptatifs, multifonctionnels (Bergen et al. 2001). Il ressort de ce concept que l'environnement peut être modifié pour établir, rétablir et/ou maximiser un service écosystémique, notamment le service de régulation dans les agroécosystèmes. Dans le cas des systèmes agricoles, l'environnement d'une parcelle cultivée peut être assimilé à la couverture végétale qui l'entoure, l'étendue dépendant de l'objet de l'étude. L'environnement de la parcelle et la parcelle d'intérêt peuvent être considérés comme un paysage agricole plus ou moins hétérogène en fonction de

la variabilité des cultures qui le composent. Plusieurs études ont montré que la complexité du paysage influençait l'abondance des ravageurs et des ennemis naturels (Bianchi et al. 2006, Chaplin-Kramer et al. 2011 ; Veres et al. 2013). D'un point de vue général, les paysages complexes défavorisent l'abondance des ravageurs soit directement, soit indirectement. i) Effet direct : en l'abondance des ravageurs via les sites de nourritures, pontes ou diapause. ii) Effet indirect : en favorisant les déplacements, en procurant des sites de ponte, des abris aux ennemis naturels des ravageurs.

Dans la littérature, les études s'accordent sur le fait que le paysage influence l'abondance des ennemis naturels. Ces études ont rapporté qu'un paysage complexe (par rapport à la proportion d'espaces naturels et l'hétérogénéité du paysage) favorisait l'abondance des ennemis naturels. Marino et Landis (1996) ont montré que dans les paysages complexes, le pourcentage de parasitisme de la noctuelle *Pseudaletia unipuncta*, ravageur du maïs, était supérieur à celui du parasitisme observé dans les paysages simples (13% versus 2%). L'analyse bibliographique de Bianchi et al. (2006) a montré que sur 24 études analysées, 74% montraient que les paysages complexes étaient bénéfiques aux guildes d'ennemis naturels. Récemment, l'analyse bibliographique de Veres et al (2013) apporte des résultats similaires : dans 70% des études analysées la complexité du paysage est positivement corrélée à l'abondance des ennemis naturels. En plus de la complexité du paysage, les déterminants de l'abondance des ennemis naturels peuvent être aussi liés au régime alimentaire (spécialiste, généraliste) et à l'échelle spatiale considérée. L'analyse bibliographique de Chaplin-Kramer et al (2012) a montré que la complexité du paysage influençait positivement l'abondance des ennemis naturels généralistes indépendamment de l'échelle spatiale considérée alors que les effets sur les spécialistes n'étaient observés que sur de fines échelles spatiales.

Quant aux effets sur les ravageurs, d'après les résultats des études observées dans la littérature, la tendance n'est pas nette. Par exemple les études de Carriere et al. (2012) ont montré que la complexité du paysage influençait positivement l'abondance d'un ravageur de cotonnier, la punaise *Lygus hesperus*. De même, des études de Zaller et al. (2008) et celle de Rusch et al. (2012), ont montré que la complexité du paysage influençait positivement l'abondance des meligèthes (coléoptère ravageur du colza) dans les parcelles de colza. Concernant ces mêmes ravageurs, Thies et al. (2005) avaient montré que les paysages simples caractérisés par la monoculture favorisaient l'abondance des meligèthes. Poveda et al (2012) ont montré que la perte en hétérogénéité dans un paysage favorisait au contraire l'abondance

de la teigne guatémaltèque de la pomme de terre (*Tecia solanivora*). La tendance n'est donc pas claire. Les résultats dépendent en effet des caractéristiques propres à l'espèce étudiée, de l'échelle spatiale considérée. Ainsi, Bianchi et al. (2006) ont recensé sur 10 études, sur 15% des études, l'effet de la complexité du paysage était positif sur l'abondance des ravageurs, sur 40%, l'effet était neutre et 45% où l'effet était négatif (Tableau 1). Par ailleurs, les résultats de la revue de Chaplin-Kramer et al (2012) sur 46 études montrent que l'effet de la complexité du paysage sur l'abondance des ravageurs (spécialistes et généralistes) n'est pas significatif. Fahrig et Jonsen (1998) montrent que la diversité du paysage favorise l'abondance d'espèces généralistes alors que les effets sur les espèces spécialistes ne sont pas significatifs.

Alors que l'effet de la complexité du paysage sur les populations d'ennemis naturels est assez homogène (effet positif) entre les études et entre les espèces, l'effet sur l'abondance des populations de ravageurs est mitigé entre les études. Il ressort de cette analyse bibliographique que la connaissance des caractéristiques du paysage ainsi que celles de l'espèce étudiée sont des éléments clés pour l'amélioration des stratégies de lutte biologique contre les ravageurs. Pour ce travail de thèse, au-delà des effets de la complexité du paysage, nous nous sommes intéressés aux éléments du parcellaire agricole qui avaient un effet sur l'abondance du ravageur étudié.

Tableau 1. Synthèse de 3 méta-analyses traitant des effets de la complexité du paysage (proportion végétation naturelle) sur l'abondance des ravageurs et des ennemis naturels (prédation, parasitisme). + effet positif, - effet négatif et 0 pour effet neutre.

Etudes	Nb total d'études	Effet sur abondance des ravageurs	Effet sur le contrôle biologique (Parasitisme et prédation)	Buffers (rayon du paysage considéré) (km)
Chaplin-Kramer et al. 2011	46	Effet non significatif	Effet fortement positif	≥ 0,5
Veres et al. 2011	34	24 études	10 études	[0,1 – 6]
		11 (-)	1 (-)	
		4 (+)	7 (+)	
		9 (0)	2 (0)	
Bianchi et al. 2006	34	10 études	24 études	Sans limite
		4,5 (-)	1(-)	
		1,5 (+)	18 (+)	
		4 (0)	5 (0)	

I-3 *Helicoverpa armigera* : le principal ravageur du cotonnier en Afrique subsaharienne

I-3-1 Classification et aire de répartition

Helicoverpa armigera (Hübner, 1808) est un lépidoptère, de la famille des Noctuidae, du genre *Helicoverpa*. Les espèces du genre *Helicoverpa* furent pendant longtemps groupées sous une seule nomenclature *Heliothine*. *Helicoverpa armigera* est une espèce ubiquiste présente sur tous les continents. *H. armigera* était considéré comme absent du continent américain, jusqu'en 2013 où le ravageur a été identifié dans des parcelles de soja dans l'Etat de Bahia et dans des parcelles de cotonnier dans l'Etat du Mato Grosso au Brésil par Czepak et al (2013). Sur le reste du continent américain, c'est plutôt l'espèce *Helicoverpa zea* qui est rencontrée. En Australie en plus d'*Helicoverpa armigera*, on rencontre l'espèce *Helicoverpa punctigera* (Fitt, 1995). En Afrique, l'espèce *Helicoverpa armigera* est dominante (Silvie et al. 2001). C'est le principal ravageur du cotonnier en Afrique de l'Ouest (Cauquil 1985). Cette espèce peut causer des baisses de rendements en coton-graine de plus de 50%.



Figure 6. Aire de répartition d'*H. armigera* à l'échelle mondiale. Photo modifiée du CABI.

I-3-2- Biologie d'*Helicoverpa armigera*

I-3-2-1 Description et identification d'*Helicoverpa armigera*

Les œufs d'*H. armigera* sont de couleur blanc nacré (Fig. 7); ils virent au brun avant l'éclosion (Nibouche, 1994). Ils mesurent 0,5 mm de diamètre. **La chenille** est de couleur grisâtre puis jaunâtre sur toute leur longueur à l'exception de la capsule céphalique qui est brun foncé (Nibouche, 1994). A partir du stade 4, la chenille présente une texture tégumentaire un peu rugueuse (Matthews 1999), une large bande blanchâtre avec les stigmates qui sont bien visibles sur les flancs et des pointillés bruns ou noirs (Nibouche, 1994). À son dernier stade (stade 5 ou 6 variable selon les conditions climatiques), la chenille présente une coloration verdâtre ou jaunâtre et mesure entre 30 et 40 mm (Czepak et al. 2013). L'appareil buccal est caractéristique des coupeur-broyeurs. **La chrysalide ou nymphe** est de couleur marron qui varie du marron clair au marron foncé. La chrysalide présente un aspect vernissé (Nibouche, 1994). Elle mesure de 14 à 20 mm de longueur. En observant l'extrémité de l'abdomen de la chrysalide, il est possible de différencier les deux sexes. Les deux sexes présentent un sillon. Le sillon génital de la femelle est une fente alors que celui du mâle comprend de part et d'autre deux boursouflures (Fig. 7). **Les adultes** d'*H. armigera* ont une envergure de 32,5 à 38 mm. Les ailes de la femelle sont brunes tendant vers l'orange ou le rouge, tandis que celles des mâles sont plutôt vertes grisâtres. L'accouplement, les pontes, la nutrition, et les vols se déroulent dès la tombée de la nuit en conditions tropicales (Roome 1975; Toppe, 1987 ; Riley et al. 1992). Dans la journée, les adultes restent sous les écorces d'arbre ou sous les feuillages (Topper 1987). Les connaissances sur les distances de déplacements locaux liés aux activités, de ponte et de recherche de refuge durant la journée sont limitées.

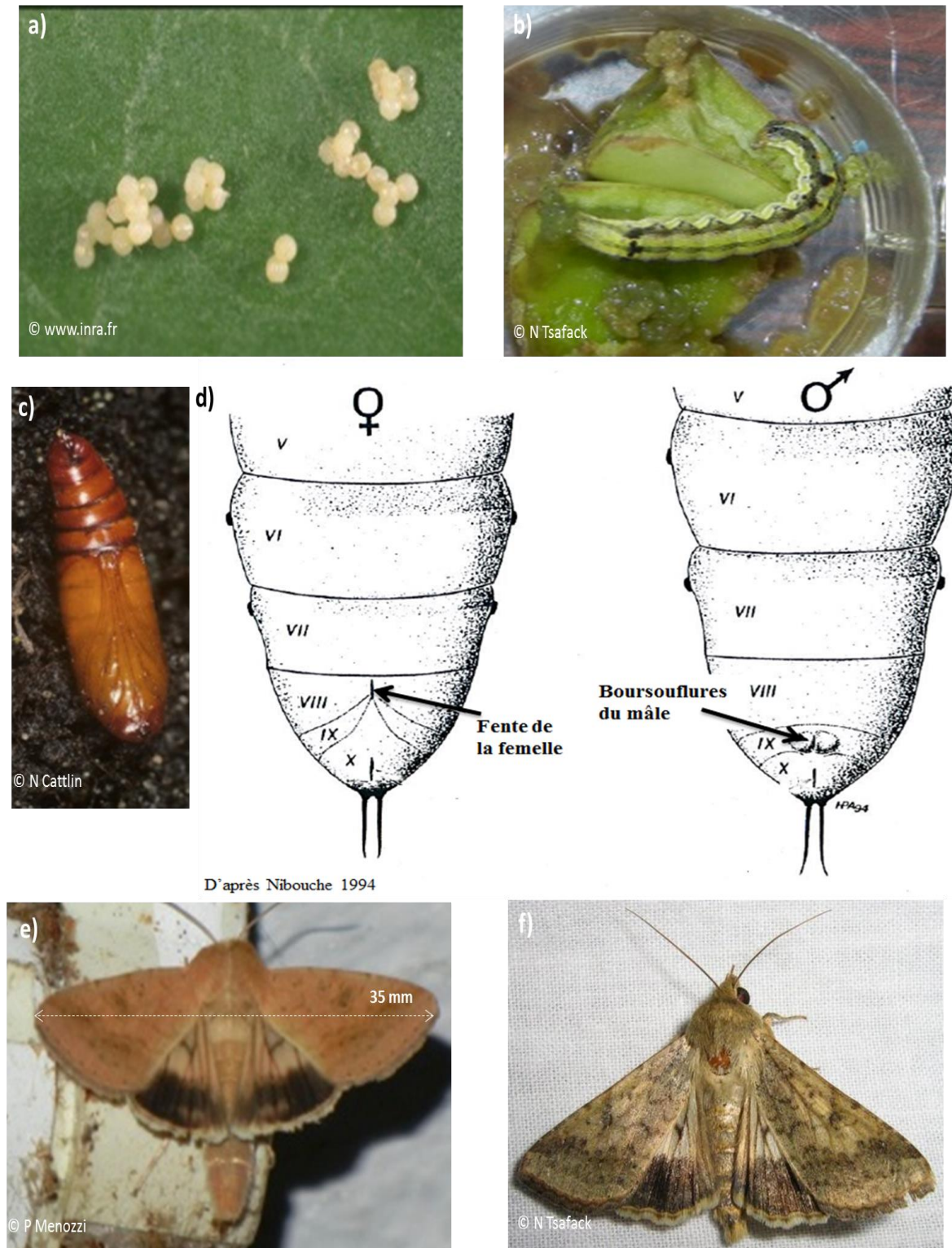


Figure 7. *Helicoverpa armigera* a) stade œufs, b) la chenille, c) la chrysalide, d) chrysalide femelle et mâle, e) un adulte femelle et f) adulte mâle.

I-3-2-2 Le cycle de vie d'*Helicoverpa armigera*

Le cycle de vie de *H. armigera* dure en moyenne un mois (30 – 35 jours) dans les conditions naturelles favorables (Fig. 8). Ce cycle peut cependant durer près de trois mois si l'individu entre en diapause. Le cycle de vie se déroule en quatre stades de développement.

Le stade adulte dure 2 à 5 jours dans les conditions naturelles (jusqu'à 12 jours observés au laboratoire). L'adulte est nectarivore, il se nourrit de nectar des fleurs. Song et al. (2007) ont montré que les femelles pouvaient pondre près de 1000 œufs pendant leur vie. Ils ont également montré que le régime alimentaire influençait la capacité à pondre. Au laboratoire, les femelles nourries de liquide sucré pondaient plus d'œufs que celles nourries d'eau distillée. Kyi et al (1991) rapportent des pertes d'œufs de 32 à 88% juste après la ponte à cause de la fragilité et de la sensibilité de ces derniers aux conditions environnementales. Cependant, considérant le nombre d'œufs que peut produire une femelle d'*H. armigera* (environ mille œufs) cette perte est négligeable pour la survie de l'espèce. Les œufs sont également sensibles aux paramètres météorologiques comme le vent et les précipitations (Kumar et al. 2009). **Le stade œuf** dure 2 à 3 jours. **Le stade chenille** se subdivise en 6 stades larvaires et parfois plus dans des conditions d'élevage au laboratoire; pendant les 2-3 premiers stades, sur le cotonnier, la chenille se nourrit à la fois de feuilles et d'organes fructifères puis pendant les stades larvaires 4 à 6, elle préfère les organes fructifères, attirées par leur forte teneur en azote (Fitt 1989). Principalement nuisible à ce stade, une chenille consomme environ 3 mg de matière fraîche dont 86% sont consommés à la fin du stade chenille (stade larvaire 6) pour faire des réserves et préparer la phase chrysalide (Nibouche et al. 2007). En moyenne le stade chenille dure 12-15 jours. La larve s'extirpe de l'organe fructifère dans lequel elle a passé la majeure partie de son développement larvaire et se laisse tomber au pied du cotonnier infesté pour passer le stade chrysalide dans le sol. **Le stade chrysalide** dure en moyenne 10 -15 jours lorsque les conditions sont favorables. Si les conditions ne sont pas favorables (précipitations, températures fraîches, absence de ressources nutritives), le stade chrysalide se maintient durant une longue période (2-3 mois) : c'est la diapause. *H. armigera* est alors caractérisé de diapausant facultatif. Le principal facteur qui déclenche la fin de la diapause est la température. Jallow et Matsumura (2001) ont montré que la durée des différents stades du cycle de vie dépendait de la température. En effet, la durée du stade œuf varie entre $14,1 \pm 1,09$ et $2,5 \pm 0,09$ jours à des températures respectives de $13,3^{\circ}\text{C}$ et $32,5^{\circ}\text{C}$. La durée du stade larvaire est de $59,1 \pm 4,69$ ou $10,9 \pm 0,14$ jours sous des températures respectives de $13,3^{\circ}\text{C}$ et $32,5^{\circ}\text{C}$. Une température de $13,3^{\circ}\text{C}$ induit l'entrée en diapause de la

chrysalide. Une autre étude, réalisée en Grèce présente plutôt l'intervalle de température [17,5 – 32,5] °C comme étant les températures seuils en dessous et au-dessus desquelles les œufs d'*H. armigera* ne sont plus viables (Mironidis et Savolopoulou-Soultani 2008). L'espèce est multivoltine. Si les conditions sont favorables, elle peut faire plus de 10 générations par an en raccourcissant les périodes de diapause ou en les transformant en de courtes périodes de repos à l'état chrysalide. C'est le cas dans les régions tropicales. L'espèce est polyphage : on observe les larves d'*H. armigera* sur cotonnier, tomate, gombo, et autres (Sharma 1985 ; Kranthi et al. 2002 ; Prudent et al 2007 ; Fefelova et Frolov 2008 ; Naseri et al 2010 ; Walker et al ; 2010). Nibouche (1994) a répertorié près de 210 plantes hôtes (cultivées et non cultivées) d'*H. armigera* dont près de 15 en Afrique de l'Ouest. En Afrique de l'Ouest, les dégâts les plus sévères sont cependant observés dans les parcelles de cotonniers et de tomate.

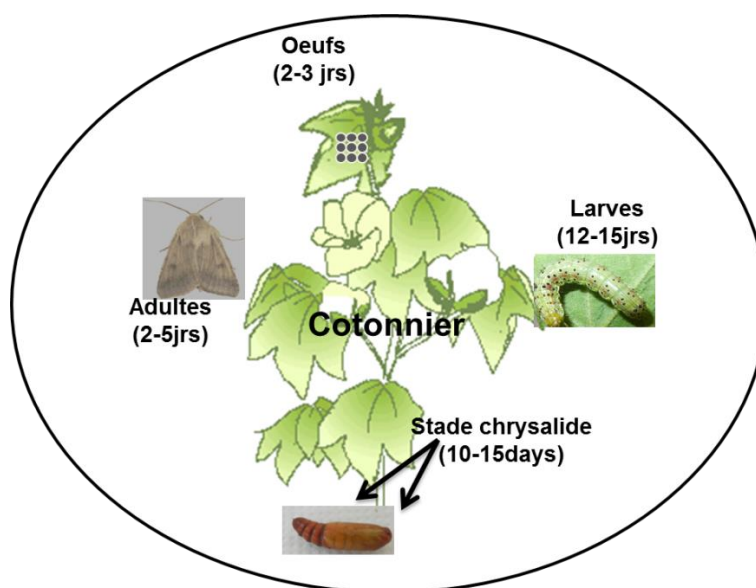


Figure 8. Cycle de vie d'*Helicoverpa armigera* sur un cotonnier en conditions tropicales. Sans diapause, ce cycle dure environ un mois.

I-3-3 Le comportement migratoire

L'espèce *H. armigera* peut être à la fois sédentaire et migratrice en fonction de la présence des ressources nutritives. Les adultes d'*H. armigera* peuvent se déplacer sur de longues distances et constituer dans ce cas des populations migrantes. Les études de Feng et

al. (2009) dans le golfe de Bohai en Chine ont montré que les populations d'*H. armigera* migraient en grand nombre sur plusieurs centaines de kilomètres à une altitude de 1500 m en moyenne. Les vols duraient toute la nuit (8h en mai – juin, 9h en Juillet et jusqu'à 10-11h en août-septembre) et étaient favorisés par le vent et les températures chaudes. Nibouche (1994) a également observé que les mouvements des populations d'*H. armigera* au Burkina Faso (Afrique de l'ouest) étaient corrélés à ceux du Front InterTropical (déplacements de la Mousson et de l'Harmattan en Afrique sub-saharienne). Les déplacements des populations d'*H. armigera* dépendent principalement des ressources nutritives présentes sur le site d'origine de l'insecte (Feng et al. 2009; Keszthelyi et al. 2013).

I-3-4 Les ennemis naturels d'*Helicoverpa armigera*

Les ennemis naturels d'*H. armigera* sont nombreux dans la nature (parasitoïdes, prédateurs, pathogènes) (Fig. 8). L'action de ces ennemis naturels varie en fonction du stade de développement (Romeis et Shanower 1996 ; Romeis et al. 1999).

Les principaux parasitoïdes des œufs et des larves d'*H. armigera* sont des micro hyménoptères ; des Trichogrammes (*Trichogramma* spp.) et des Telenomus (*Telenomus* spp.). Les études d'Oztemiz et al (2009) en Turquie, ont montré qu'un lâcher (120 miles par ha) de *Trichogramma evanescens* dans les parcelles de cotonniers permettait de réduire de 77% - 80% l'infestation larvaire avec des taux de parasitisme sur *H. armigera* estimés à 63%-71%. En Inde, Kumar et al (2009) ont également reporté des taux de mortalité élevés (50%) des œufs d'*H. armigera* dûs au parasitisme de *Trichogramma chilonis*.

Par ailleurs, les œufs et les larves sont aussi attaqués par des pathogènes. Ce sont principalement des virus et des bactéries. En Chine par exemple, un virus de la polyédrose nucléaire (VPN) est commercialisé pour lutter contre *H. armigera* dans les parcelles de cotonniers (Luo et al, 2014). Les bactéries (le bacille Gram positif *Bacillus thuringiensis* Bt) et les champignons (comme *Metarhizium anisopliae*) sont les principaux agents pathogènes des larves d'*H. armigera* (Lawo et al, 2008).

Parmi les prédateurs d'*H. armigera*, les chrysopes comme *Chrysoperla carnea* (Marcos et Rejesus 1992), les araignées comme *Cheiracanthium pelagicum* (Pérez-Guerrero et al, 2009) et les fourmis comme *Pheidole* spp (Van Denberg et al. 1997 ; Mansfield et al. 2003) sont cités comme les plus observés dans les parcelles de cotonniers.

La littérature sur les ennemis naturels d' *H. armigera* en Afrique est limitée. Les études de Van Den berg et al. 1997 au Kenya présentent les fourmis comme les principaux prédateurs d'*H. armigera* observés dans les champs de cotonniers. Des études menées dans les champs de tomate en Afrique de l'ouest ont montré que l'utilisation des champignons *Beauveria bassiana* permettait de lutter contre *H. armigera* (James et al. 2010). Ces champignons pouvaient ensuite persister dans l'environnement et constituer une source d'ennemis naturels contre *H. armigera*.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés essentiellement aux stratégies de régulation bottom-up d'*H. armigera*. Ces stratégies font appel à toutes les méthodes qui empêchent l'arrivée du ravageur dans la parcelle (Gurr et al. 2003), par opposition aux stratégies top-down qui impliquent toutes les méthodes qui réduisent l'infestation dans une parcelle. Ces dernières méthodes consistent généralement à lutter contre les ravageurs par l'utilisation d'ennemis naturels. Dans ce travail de thèse, nous traiterons essentiellement des stratégies top-down (I-2-2).

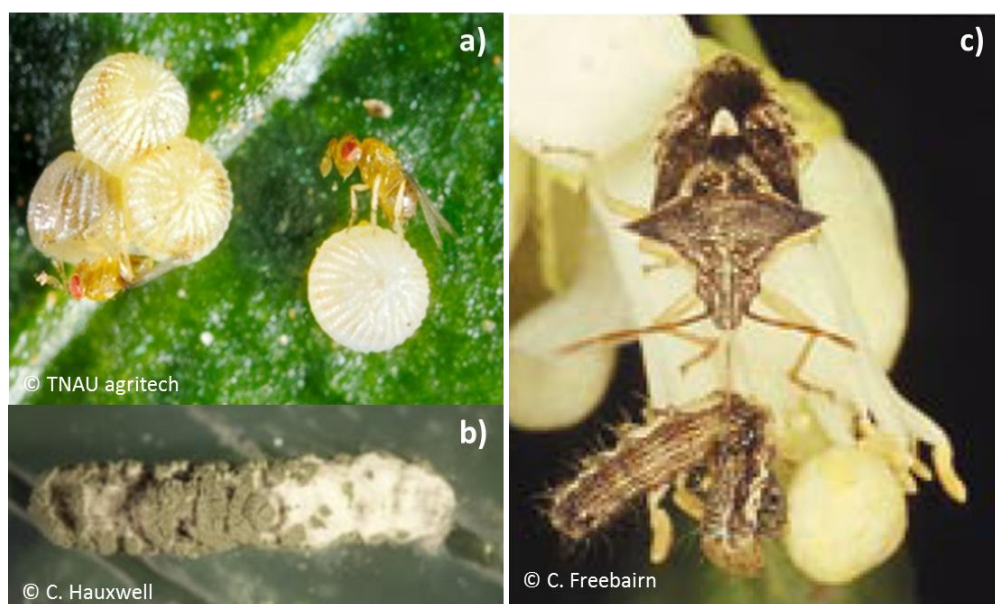


Figure 9. Prédateurs et parasitoïdes d' *H. armigera*. A) Œufs d'*H. armigera* parasités par un trichogramme, b) Chenille d' *H. armigera* infestée par le champignon vert du genre *Metarhizium*, c) Chenille d' *H. armigera* attaquée par une punaise prédatrice.

I-4 Le Bénin: un producteur important de coton en Afrique de l'Ouest

I-4-1 Présentation du Bénin

Le Bénin est situé en Afrique de l'Ouest dans le golfe de Guinée, localisé entre 6° 25' et 12° 30' degrés de latitude Nord et entre 0° 45' et 4° degrés de longitude Est. Il est limité à l'ouest par le Togo, à l'est par le Nigeria, au nord-ouest par le Burkina Faso et au nord par le Niger ; le sud du pays s'ouvre sur 122 km de côte sur l'océan atlantique (Fig. 11). Le Bénin présente un relief peu accidenté constitué de plateaux et de plaines. Il s'étire du Nord au Sud sur 670 km. Le nord du pays est caractérisé par un climat tropical constitué de deux saisons : la saison sèche (novembre - avril) et la saison des pluies (mars - octobre). Le Bénin est traversé par la zone de convergence intertropicale gouvernée par deux principaux vents : l'Harmattan qui est un vent sec et chaud, prend sa source au sud du Sahara et souffle du nord vers le sud de la fin de la saison des pluies (novembre) jusqu'en fin Mars et la Mousson qui est un vent humide, qui souffle des plaines côtières vers le nord du début de la saison des pluies jusqu'en Octobre. Le Front intertropical représente la frontière entre l'air chaud de l'Harmattan et l'air humide de la Mousson. Au cours de l'année, le Front Inter-tropical se déplace du 7^{ème} degré Nord en janvier jusqu'au 20^{ème} degré Nord en août (Judex et Thamm. 2008).

La disposition géographique étirée du pays et les déplacements du Front Inter-tropical apportent des nuances sur le climat. Le nord du pays dominé par l'Harmattan présente par conséquent un climat plus aride, avec une saison sèche plus longue (mi-octobre -mi-mai). Le sud du pays est plus humide avec une plus longue saison des pluies (début Mai- début novembre) et une courte saison sèche (novembre – avril). Entre chaque saison, on peut observer des saisons transitoires.

Le secteur agricole est un secteur prépondérant dans l'économie du Bénin ; Il offre près de 70% des emplois du pays. Il a contribué pour 33% du Produit Interne Brut en 2013; (MAEP 2014) dont 70% étant lié au sous-secteur de l'agriculture. Au Bénin le calendrier cultural est étroitement lié aux variations climatiques observées dans le pays. Il varie par conséquent selon les zones géographiques (nord et sud) et les saisons. Le sud du pays avec son climat plus humide est caractérisé par un couvert végétal quasi-permanent toute l'année. C'est la

zone de production des cultures vivrières : les céréales (le maïs, le riz) ; les tubercules et racines (manioc, igname). On observe dans le sud une augmentation des surfaces en de palmiers à huile, anacardiers et ananas (Boucher, 2012). Le cotonnier est aussi cultivé dans le sud mais moins intensivement que dans le nord du fait du climat moins propice à son développement.

Le Nord Bénin caractérisé par des conditions climatiques plus arides est la zone de la culture du cotonnier par excellence. Dans cette région le système de culture se définit essentiellement par les cultures de cotonniers et de maraîchage. La surface moyenne des parcelles est de 1-2 ha. Les plus grandes parcelles sont celles de cotonniers. Les céréales sont également cultivées telles que sorgho, le maïs, le mil et d'autres cultures comme le riz. On rencontre d'autres cultures : l'arachide, le soja, le niébé, l'oignon... Les rotations de cultures se font aussi en fonction du cotonnier (cotonnier-céréale-cotonnier). Le maraîchage se concentre autour des points d'eau, près des puits et des cours d'eau permanents permettant ainsi la culture durant la saison sèche. Les cultures maraîchères sont principalement cultivées durant la saison sèche mais on rencontre également dans certaines zones des cultures de tomate durant la saison des pluies sur de petites surfaces. La majeure partie des travaux agricoles est réalisée manuellement. Seuls les labours de début de saison des pluies sont réalisés à l'aide des charrues tirées par des animaux ou des tracteurs pour la minorité des agriculteurs les plus riches. Pendant la saison des pluies, le couvert végétal est dense mais durant la saison sèche, le sol est le plus souvent nu et aride, soumis de ce fait à l'érosion éolienne : Le paysage est de type savane arborée. Les parcelles précédemment cultivées sont nues (sans aucune herbe) ceci en raison de la sécheresse et du pâturage excessif des bovins (Fig.10).



Figure 10. Photos pré et post récoltes correspondant aux paysages agricoles pendant la saison des pluies et la saison sèche respectivement.

Ce travail de thèse s'est déroulé principalement dans la zone du Nord Bénin, dans le département de l'Alibori, près du village d'Angaradébou (11°29'-3°20'N). Ce département est l'un des plus grands producteurs de coton au Bénin. C'est aussi l'un des plus infestés par *Helicoverpa armigera* (Vaissayre et Cauquil 2000; Martin et al. 2005). À 100 Km au Nord de ce village, dans la région de Malanville située en bordure du fleuve Niger (qui est frontalier avec le Niger) ; on rencontre principalement durant la saison sèche de grandes zones de cultures maraîchères de tomate, d'oignon et de piment (Fig. 11).

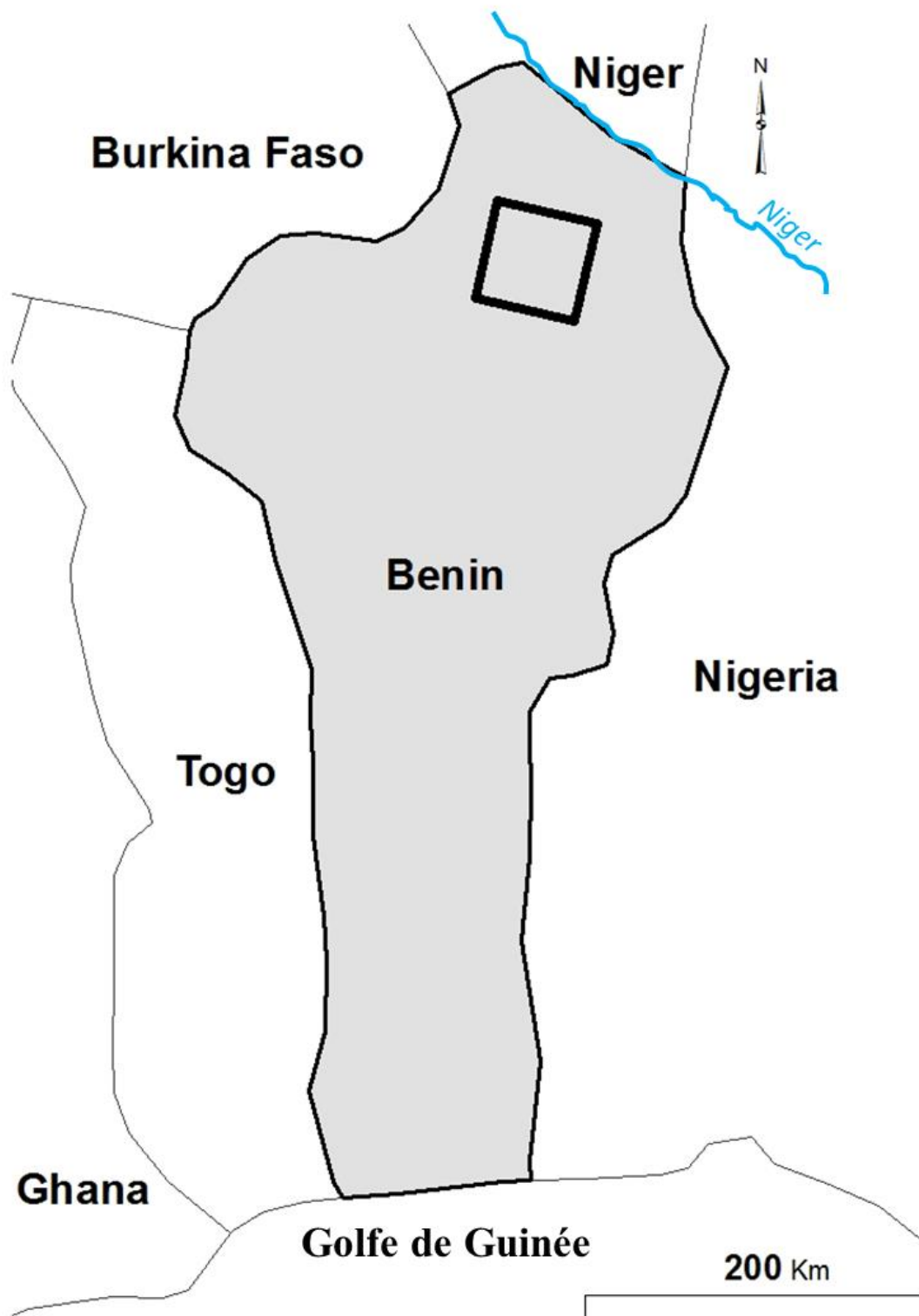


Figure 11. Carte du Bénin. Le carré représente la zone d'étude centrée sur le village d'Angaradébou. Source : carte du monde World94 à l'aide d'ArcGis10 (modifié). Le fleuve *Niger* est matérialisé en bleu.

I-4-2 La production cotonnière : une production à haut niveau d'intrants.

Les débuts de la culture du cotonnier remontent très loin dans l'histoire de l'humanité. L'origine géographique reste confuse, mais les plus anciens vestiges de fibres de coton ont été retrouvés en Inde et au Pakistan, vieux de plus de 4000 ans av. J.C (Smith et al. 1999). Le coton était tissé et filé pour fabriquer des vêtements, sans exportation et donc sans forte demande d'offre, la culture du cotonnier n'était pas industrialisée. Le cotonnier comprend près de 50 espèces du genre *Gossypium* (Brubaker et al. 1999). Seules 4 espèces (*G. herbaceum*, *G. arboreum*, *G. hirsutum* et *G. barbadense*) sont aujourd'hui domestiquées et servent pour la production de fibres, d'huile végétale et de source nutritives en protéines (Brubaker et al. 1999). *Gossypium hirsutum* est l'espèce la plus répandue dans le monde dont l'Afrique. La surface arable mondiale représente 1396 millions d'ha (FAOstat), celle cultivée en cotonniers est de 34 millions d'ha, soit environ 2,5% de la surface arable mondiale. Les cinq plus grands producteurs de coton au monde sont : la Chine – les USA – l'Inde – le Pakistan et le Brésil. La Chine est le premier pays producteur de fibre de coton avec 6,5 millions de tonnes de fibre de coton produit en 2011. Elle produit plus de 25% de la production mondiale de coton (FAOstat). La culture du cotonnier contribue largement à l'économie du marché international.

Dans les pays en voie de développement comme le Bénin, le coton occupe une part très importante dans l'activité économique du pays, il représente plus de 16% du PIB en 2006. Au Bénin, comme dans les autres pays producteurs d'Afrique de l'ouest, le cotonnier est semé fin mai –début juin pour être récolté à partir du mois de novembre. C'est une culture de type pluvial. La culture du cotonnier procure aux agriculteurs 2/3 à 3/4 de leur revenu monétaire (EIU, 2008). Environ 1/3 de la population paysanne du pays cultive le cotonnier. De ce fait, 2 millions de personnes dépendent de la filière cotonnière. En 2012, le cotonnier représentait environ 200000 ha, soit 2,4% de la surface agricole utile du pays. Le nord du pays, en raison du climat chaud plus approprié contribue pour plus de 86% de la production cotonnière. La production de coton est organisée par un réseau national de filières composées d'agriculteurs et de formateurs. Ainsi, les producteurs sont regroupés autour des programmes nationaux qui dirigent le marché pendant les récoltes et conseillent les agriculteurs durant la saison de culture. Les producteurs sont payés à la récolte du coton selon le cours du marché avec

possibilité de primes en fonction de la qualité du coton. Au Bénin, la production a été multipliée par cent en 40 ans (FAOStat).

La culture du cotonnier avec le maraîchage sont les cultures les plus consommatrices de pesticides. En effet le cotonnier est attaqué par plusieurs ravageurs dont les chenilles phyllophages et carpophages, et les ravageurs piqueur-suceurs qui se nourrissent de la sève des plantes (Vayssare et Cauquil. 2000). Représentant seulement 2,5% de la surface arable mondiale, la culture du cotonnier consomme pourtant près de 16% des pesticides produits dans le monde (Ouedraogo et al. 2008). Durant son cycle, le cotonnier peut être traité chimiquement jusqu'à 20 fois pour maximiser la production. Le nombre moyen d'application au Bénin est de 5. L'administration des pesticides dans les champs de cotonniers des pays en voie de développement, se faisant manuellement et généralement sans protection, détériore la santé des agriculteurs surtout celles des petits cotonculteurs. Sans rotation ni assolement efficaces, la culture de cotonnier appauvrit les sols et favorise l'érosion.

I-4-3 Stratégies de protection actuelles du cotonnier au Bénin: la culture conventionnelle et raisonnée

Les stratégies de lutte contre les ravageurs du cotonnier en général et contre la noctuelle polyphage *Helicoverpa armigera* en particulier ont été pendant longtemps basées sur la lutte chimique par utilisation quasi-exclusive de pesticides chimiques. Dans le Nord Bénin (zone d'étude), les cotonculteurs encadrés par des programmes nationaux appliquent des programmes de traitement basés sur un calendrier prédéfini (Cauquil 1985).

Plusieurs problèmes découlent de cette stratégie d'utilisation abusive des pesticides. Ce sont les problèmes de santé pour les agriculteurs, de pollution de l'air, des sols et des nappes phréatiques (Assogba-Komlan et al. 2007). À côté de ces problèmes, Martin et al. (2005) ont aussi observé l'apparition de gènes de résistance à certains pesticides (pyréthrinaïdes) chez les ravageurs, ce qui entraîne l'érosion des rendements en coton dans cette région. Du fait de tous ces problèmes, il apparaît évident pour tous les acteurs de la filière cotonnière au Bénin qu'il est important de chercher des solutions de lutte alternatives aux insecticides chimiques contre les ravageurs.

En 1998, une baisse drastique des rendements en coton-graine des principaux pays producteurs d'Afrique de l'Ouest a été observé due principalement à l'apparition de populations d'insectes résistantes aux insecticides pyréthrinaïdes (Fig. 12). En réponse à cette

baisse du rendement, des stratégies de lutte chimique raisonnée ont été proposées. Ces stratégies impliquent le recours à la lutte chimique contre les ravageurs basée sur des interventions en fonction de seuils d'infestation et sur une réduction des dosages (Ochou et al. 1998). Silvie et al. (2001) ont observé une réduction d'utilisation des pesticides de près de 50% et une augmentation du rendement de la production du coton-graine de plus de 10% en moyenne (100 à 200 kg/ha). Cependant, avec cette stratégie, les inconvénients liés à l'utilisation de ces produits chimiques persistent (dégradation de la santé des agriculteurs, pollution, résistance des ravageurs aux pesticides et pertes de rendements).

Dans ce contexte, Il est nécessaire de mettre en place des stratégies de lutte durables pour résoudre les problèmes suscités ou tout au moins ralentir la résistance des ravageurs aux pesticides, réduire la pollution tout en améliorant la qualité du coton ouest-africain. Des chercheurs du CIRAD, en collaboration avec leurs homologues des Centres nationaux de Recherche agronomique, à travers les écoles paysannes conseillées par l'Organisation des Nations Unies et la FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) ont initié les cotonculteurs à la lutte intégrée (Prudent et al. 2006) mais des efforts restent cependant à faire.

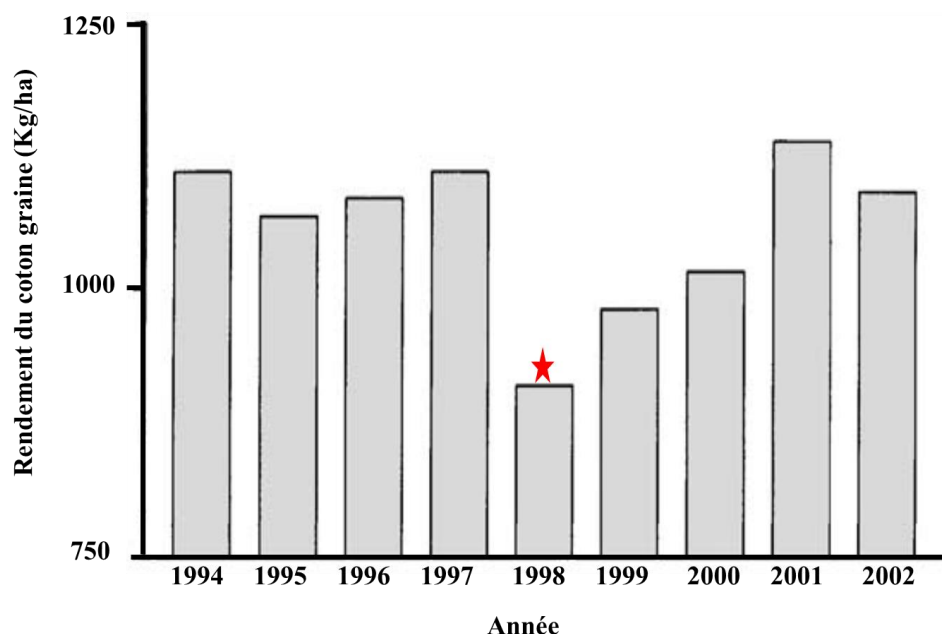


Figure 12. Rendements en coton-graine en Afrique de l'ouest (Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Mali, Sénégal et Togo) entre 1994 et 2002 d'après Martin et al. 2005.

I-5 Objectifs et démarche générale du travail de thèse

I-5-1 Objectifs du travail de thèse

Le défi principal des stratégies de lutte agro-écologique est de concevoir des techniques de lutte économes en pesticides qui favorisent à la fois la productivité et la durabilité des agrosystèmes. Les études peuvent se faire à l'échelle de la parcelle en analysant les effets des pratiques agricoles et/ou à l'échelle du paysage en analysant les effets des caractéristiques du paysage sur la dynamique des populations des ravageurs. L'objectif principal de ce travail de thèse est de déterminer si les structures paysagères arrivent à maîtriser l'abondance d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier dans le Nord Bénin et par la suite d'identifier ces structures paysagères. Les facteurs à l'échelle de la parcelle (les pratiques agricoles et le précédent cultural) sont pris en compte en raison de leur importance déjà démontrée sur l'abondance d'*H. armigera* (Lu et Baker 2013). Les variables d'intérêt pour ce travail de thèse étaient les variables paysagères mais nous souhaitons pouvoir identifier la variabilité de l'abondance du ravageur imputable aux variables locales. À l'échelle du paysage, nous traitons de l'effet de la composition du paysage sur l'infestation larvaire dans les parcelles de cotonnier (Partie III) et sur l'abondance des adultes d'*H. armigera* (Partie IV). Il s'agira également d'identifier l'organisation du parcellaire agricole qui favorise le moins l'abondance du ravageur dans les parcelles de cotonnier. De ce fait, s'intéressant aux parcelles de cotonnier, nous identifierons quelles autres plantes hôtes (maïs, tomate) pourraient servir de refuge en réduisant ainsi l'infestation dans les parcelles de cotonnier. Ainsi, cette thèse contribuera à produire les connaissances nécessaires à une protection intégrée du cotonnier par la gestion du parcellaire agricole et des habitats naturels via une approche paysagère de la régulation naturelle d'*H. armigera* principal ravageur du cotonnier dans notre zone d'étude.

Pour atteindre cet objectif, nous nous proposons d'apporter des éléments de réponses aux questions suivantes:

- D'où viennent les populations d'*H. armigera* observées pendant les pics d'infestation dans les parcelles de cotonnier ? Les individus sont-ils issus des populations migrantes venant du sud du Bénin ou des individus issus de populations locales?
- Quels sont les éléments du paysage qui ont un effet sur l'abondance du ravageur?

-Quels éléments du paysage déterminent l'origine trophique des adultes piégés dans un paysage?

-Quels sont les facteurs locaux (pratiques agricoles sur la parcelle) qui influencent l'infestation d'*H. armigera*?

L'originalité de cette thèse réside dans la détermination de l'origine trophique des adultes d'*H. armigera* par des outils de biochimie tels l'analyse isotopique stables de carbone des ailes des adultes, et l'analyse des glycoalcaloïdes spécifiques aux plantes hôtes dans les extraits d'abdomen et du thorax des adultes d'*H. armigera*. En effet pour déterminer la part des plantes hôtes en C3 (majoritairement cotonnier et tomate) ou C4 (maïs et sorgho) dans l'abondance des individus d'*H. armigera* dans un paysage, nous avons analysé les isotopes de carbone dans les ailes des adultes *H. armigera* piégés; de même, pour déterminer la part du coton dans l'abondance des individus d'*H. armigera* dans un paysage, nous avons analysé les résidus de gossypol, glycoalcaloïde spécifique du cotonnier, dans le corps des adultes *H. armigera* piégés dans les parcelles.

I-5-2 Hypothèses de la thèse

Pour répondre à ces questions, nous avons testé 4 hypothèses de réponse d'*H. armigera* aux pratiques agricoles à l'échelle de la parcelle et à l'organisation du paysage ; ces hypothèses se basent sur des théories générales ou des connaissances empiriques sur *H. armigera*:

1/ L'hypothèse de la concentration de ressources développée par Root 1973. Considérant le cotonnier comme la plante hôte principale d'*H. armigera* en Afrique de l'Ouest (Nibouche, 1994), nous posons l'hypothèse que l'abondance du cotonnier dans un contexte paysager est plutôt favorable à la présence d'*H. armigera* dans une parcelle de cotonnier. Dans ce cas, des paysages à forte proportion de cotonniers devraient héberger une forte abondance d'*H. armigera*.

2/ L'hypothèse de l'hôte alternatif. Les plantes hôtes alternatives d'*H. armigera* majoritairement présentes dans la zone d'étude sont le maïs, la tomate et une adventice *Cleome viscosa* (Capparidacée) présente dans la végétation naturelle (Nibouche 1994). Nous posons l'hypothèse que dans un contexte paysager, la présence de ces plantes-hôtes autour

d'une parcelle de cotonnier peut contribuer à réduire ou augmenter l'infestation dans cette parcelle. Ainsi, l'hétérogénéité du paysage pourrait également avoir un effet sur l'infestation dans une parcelle de cotonnier.

3/ L'hypothèse du précédent cultural. Nibouche (1994) a suggéré que les populations d'*H. armigera* observées au début de la saison des pluies pouvaient être des individus locaux ayant passé leur période de diapause dans les parcelles de tomates irriguées ayant été cultivées durant la précédente saison sèche (Fig. 13). Dans ce cas, une parcelle de cotonnier avec un précédent cultural tomate pourrait être plus infestée qu'une autre parcelle de précédent cultural différent.

4/ L'hypothèse de la régulation par les prédateurs. Plusieurs études montrent que la végétation naturelle abrite les ennemis naturels d'*H. armigera* (Van Denberg. et al. 1997, Mansfield et al. 2003, Romeis et Shanower. 1996). Dans ce cas de figure, la présence de la végétation naturelle dans un contexte paysager pourrait indirectement réduire l'abondance d'*H. armigera* dans la parcelle de cotonnier voisine.

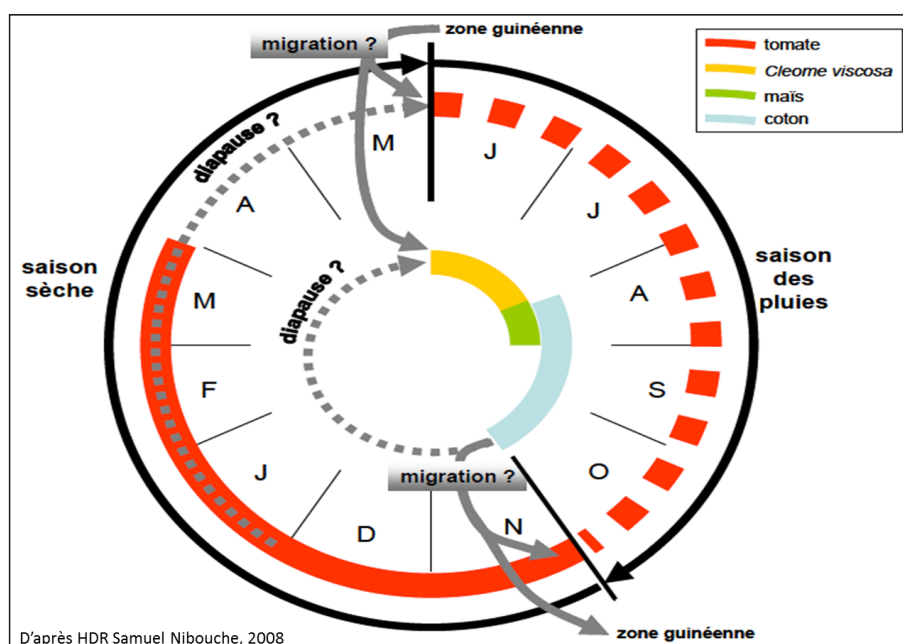


Figure 13. Période d'attractivité des plantes hôtes d'*Helicoverpa armigera* en Afrique de l'Ouest (Modifié d'après Nibouche 2008)

I-6 Matériel et Méthodes généraux

Dans cette partie, nous présentons le travail qui a été réalisé sur le terrain, au laboratoire ainsi que les outils statistiques utilisés pour analyser les données. Dans un premier point, nous présentons les analyses de cartographie que nous avons réalisées et les critères de sélection des parcelles sur le terrain. Dans un second temps, nous présentons brièvement les pratiques agricoles des parcelles de cotonnier sélectionnées que nous avons relevé (objet de la partie III) sur le terrain. Dans un troisième temps, nous présentons successivement, l'élevage au laboratoire d'*H. armigera*, les mesures d'infestation sur le terrain dans les parcelles sélectionnées et les piégeages des adultes d'*H. armigera*. Dans la section I-6-4, nous présentons brièvement les analyses au laboratoire (présentées aussi dans la partie II). Et finalement la section I-6-5 concerne le choix des outils pour l'analyse statistique.

I-6-1 Cartographie et Analyse du paysage

I-6-1-1 Cartographie des mosaïques paysagères

Le travail de cartographie a été réalisé à l'aide des images *Google Earth* de la zone d'étude. Les images importées dataient de la saison sèche 2008 ; elles nous permettaient de visualiser le découpage des parcelles et les routes/pistes dans la zone d'étude (Fig. 14)

Pendant la campagne de terrain 2011 (septembre - novembre), nous avons relevé l'occupation du sol en nous servant des images *Google Earth* comme fond cartographique (Fig. 14). Nous avons ensuite commandé auprès du CNES (le Centre National d'Étude Spatiale français) deux images SPOT de novembre 2011 (saison des pluies) et février 2012 (saison sèche). L'objectif était de réaliser une classification des deux images afin de produire une carte d'occupation du sol de la zone d'étude par télédétection. Cette mission a fait l'objet d'un stage de fin d'étude (Betbeder, 2012). Les résultats de cette classification montrent une bonne discrimination de la végétation naturelle par rapport aux espaces cultivées (~89,49% bien classés). Cependant, les résultats concernant la discrimination des parcelles cultivées entre elles étaient inexploitable. Les résultats de la classification de l'image SPOT proposent 42% de parcelles de cotonniers bien classées et 54% de céréales (maïs et sorgho). Plusieurs raisons expliquent ces résultats mais les plus probables seraient dus en premier lieu au décalage entre les dates de capture des images SPOT et les relevés d'occupation du sol sur le terrain. En effet, les images dataient de novembre 2011 et de février 2012 alors que les relevés d'occupation du sol ont été réalisés en

septembre 2011. À la date du 11 novembre 2011, plusieurs cultures dont le maïs, le sorgho sont sèches et parfois récoltées. Pour résoudre ce problème, il aurait fallu réaliser une acquisition de l'image SPOT au moment des relevés sur le terrain (septembre). En effet, durant cette période les cultures sont en pleine végétation et le feuillage couvrant le sol permet une meilleure discrimination de la signature spectrale des cultures entre elles. Une autre explication des résultats inexploitable de la classification pourrait être liée au faible nombre d'objets relevés sur le terrain. En effet, les relevés sur le terrain n'étaient pas homogènes, par exemple, très peu de relevés de parcelles de sorgho par rapport au relevés de parcelles de cotonnier. Ceci est un reflet du grain du paysage ; Les cultures de la zone d'étude sont diverses et composées de petites parcelles adjacentes, ce qui rend la discrimination difficile.

Pour la campagne 2012 nous avons commandé une image de septembre, afin de corréliser les dates d'acquisition de l'image et le relevé sur le terrain et résoudre les problèmes précédemment évoqués. Cependant, l'image SPOT n'a finalement pas été exploitable pour cause d'humidité et de couvert nuageux pendant les mois de septembre et d'octobre.

I-6-1-2 Sélection des parcelles et du gradient paysager

Les éléments du paysage considérés dans notre travail sont constitués de la couverture végétale relevée dans une zone circulaire (*buffer*) d'un rayon de 500 m autour des parcelles sélectionnées (Fig. 13). Le rayon de 500 m est un compromis entre les moyens disponibles sur le terrain, le temps pour la digitalisation, l'analyse des résultats et le grain (diversité) du paysage observé dans la zone d'étude. L'étude a été réalisée pendant deux années. Le premier critère était la sélection des parcelles de cotonnier (0,5 ha afin d'avoir une même surface pour toutes les parcelles étudiées), puis le gradient paysager autour des parcelles a été observé et les parcelles sélectionnées ont été conservées si le paysage autour correspondait aux 4 contextes paysagers suivants : i/ paysage composé d'au moins 50% de cotonnier ; 2i/ paysage composé d'au moins 50% de maïs ; 3i/ paysage composé d'au moins 50% de végétation naturelle ; 4i/ paysage composé de parcelles de tomates autour. Pour chaque type de paysage, nous avons des répliqués de cinq parcelles. Ainsi, en 2012 nous avons 20 parcelles donc cinq répliqués suivant les quatre critères énoncés ci-dessus. Cependant en 2011, en raison des difficultés d'accès aux parcelles de cottonniers entourées de tomate, nous n'avons pas considéré ce critère. Par ailleurs, durant la sélection des parcelles, nous avons également considéré le précédent cultural en privilégiant les parcelles à précédent cultural tomate.

Les différents paysages décrits ci-dessous nous ont permis de tester les hypothèses posées pendant cette thèse. Ainsi, le premier critère de sélection (paysage $\geq 50\%$ de cotonnier) nous a permis de tester l'hypothèse de la concentration de ressources. Le second critère (paysage $\geq 50\%$ de maïs) et le critère « parcelles de tomates autour des parcelles de cotonnier sélectionnées » permettaient de tester l'hypothèse de l'hôte alternatif. Le troisième critère ($\geq 50\%$ de végétation naturelle) nous a permis de tester l'hypothèse de la végétation naturelle et ainsi de tester l'effet de la complexité de paysage (Tab. 2).

Nous avons ensuite relevé puis digitalisé le relevé d'occupation du sol (Fig. 14) à l'aide d'ArcGIS pour extraire les proportions en surface des plantes hôtes d'*H. armigera* qui nous servaient pour tester les hypothèses posées.

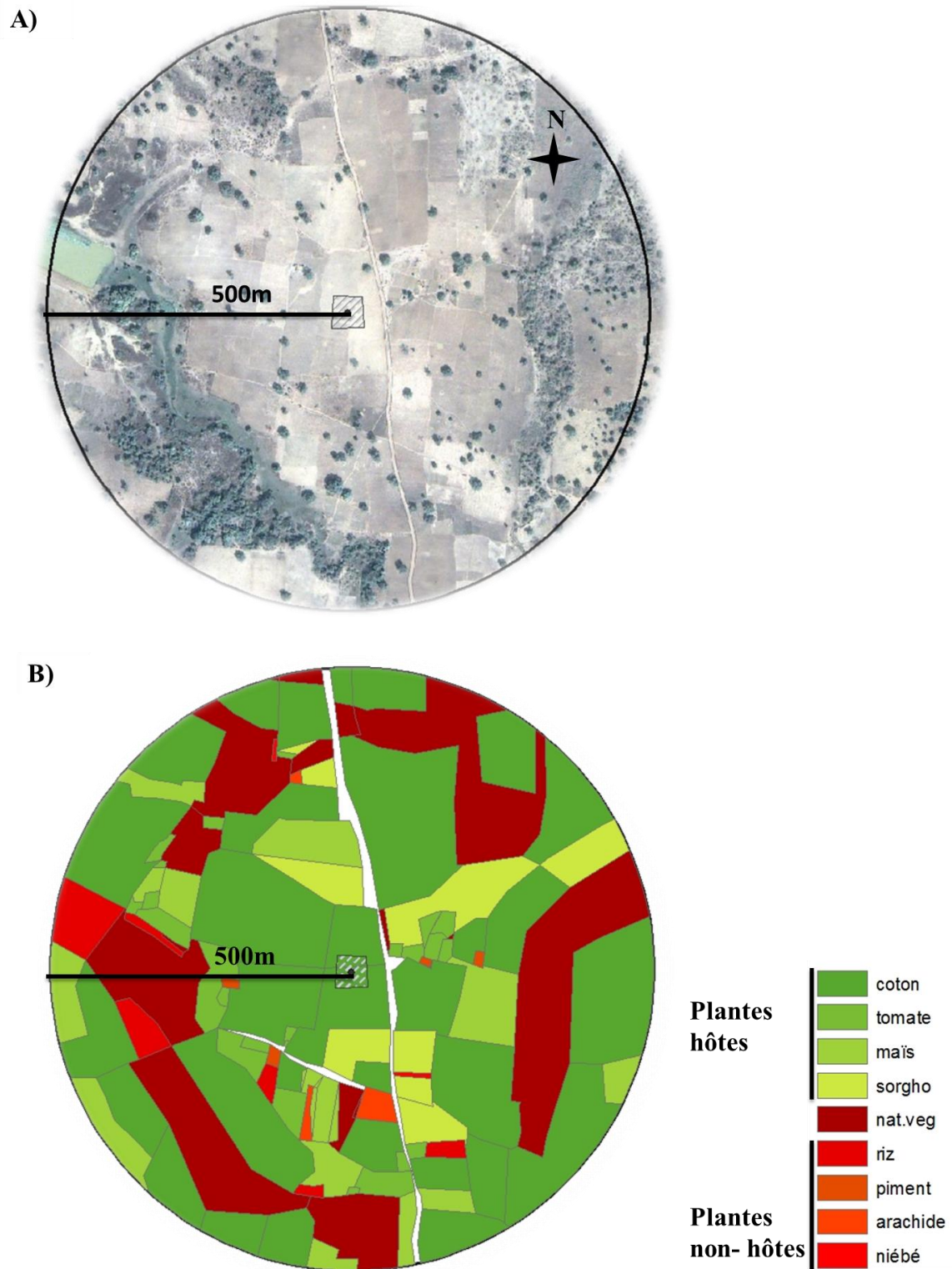


Figure 14. Buffer de 500 m autour de chaque parcelle sélectionnée. A) Image *Google Earth*, scène de Février 2008 dans la zone d'étude. Source : Google Earth 2008 B) Occupation du sol relevée autour d'une parcelle des parcelles sélectionnées. Le relevé est réalisé en fonction des plantes cultivées (hôtes, non-hôtes) et de la végétation naturelle (jachères, friches, forêts). Source : Relevé d'occupation du sol 2012 N Tsafack.

I-6-2 Les pratiques agricoles dans les parcelles de cotonnier sélectionnées

Des études ont montré que les pratiques agricoles influencent la diversité biologique dans les agrosystèmes (McLaughlin et Mineau 1995; Benton et al 2002; Ammann 2004). Par conséquent elles, influencent également les taux d'infestation dans les parcelles cultivées (Renou et al 2011. Duyck et al 2012). Pour chaque parcelle de cotonnier sélectionnée, nous avons relevé quatre pratiques agricoles: la fréquence de traitement aux pesticides, la fréquence de sarclage, la date de semis et le précédent cultural de la parcelle. Les pratiques ont été relevées suite à l'enquête que nous avons menée auprès des propriétaires des parcelles de cotonnier sélectionnées. Les hypothèses relatives à ces pratiques agricoles sont présentées dans la partie III de la thèse.

I-6-3 Élevage, comptage et piégeage d'*Helicoverpa armigera*

Le matériel biologique est composé de larves et d'adultes d'*H. armigera*. Nous avons élevé des individus témoins, dans le laboratoire d'élevage de Garoua au Cameroun/Afrique Centrale. Dans les parcelles de cotonnier sélectionnées au Bénin, nous avons mesuré l'infestation larvaire par comptage des larves et l'abondance des adultes par piégeage lumineux en début de soirée.

I-6-3-1 Élevage d'*Helicoverpa armigera* sur 3 sources nutritives.

Nous avons pour objectif de produire des individus témoins pour les analyses d'isotopes de carbone C13/C14 et pour l'analyse de l'origine trophique via l'analyse des marqueurs de coton (gossypol) et de tomate (tomatine). Nous avons élevé les individus sur 3 sources de nourriture: le maïs, la tomate, le cotonnier (Fig. 15). Nous avons arrêté le développement des individus à différents stades du cycle biologique: au stade larvaire 6 (L6) et aux stades adulte à jour 0 (AD0), 6 (AD6) et 12 (AD12) après émergence.



Figure 15. Photographie des individus *H. armigera* élevés au laboratoire dans des boîtes de Pétri suivant trois modalités: a) Une chenille et une chrysalide sur feuille de cotonnier b) Des chenilles sur tomates vertes c) Une chenille en phase de chrysalidation sur un milieu nutritif à base de farine de maïs.

1-6-3-2 Comptages des larves d'*Helicoverpa armigera* dans les parcelles de cotonnier

L'objectif était de mesurer l'infestation dans les parcelles de cotonniers sélectionnées. Dans chacune des parcelles sélectionnées, nous avons compté à raison d'une fois par semaine pendant les périodes de campagne (septembre à novembre, en 2011 et 2012) le nombre de chenilles observées sur 50 cotonniers (Fig. 16). Sur chaque diagonale de la parcelle, nous avons examiné 25 cotonniers. Toutes les parties (feuilles, tiges) du cotonnier sont observées. En 2011, les parcelles ont été visitées chacune 6 fois et en 2012, 8 fois pendant la campagne de terrain.

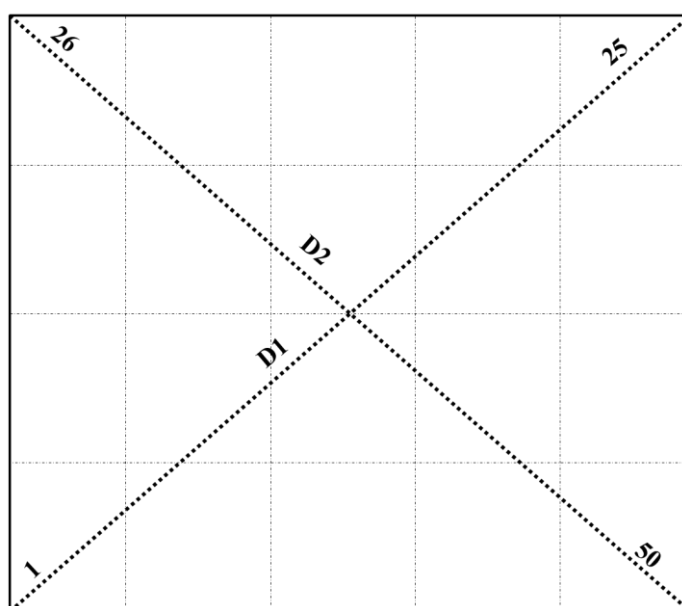


Figure 16. Schéma descriptif du protocole des mesures d'infestation dans les parcelles de coton sélectionnées. D1, D2 les deux diagonales de la parcelle. 1, 25, 26 et 50 représentent le nombre de cotonniers examinés.

I-6-3-3 Piégeages des adultes d'*Helicoverpa armigera* dans les parcelles de cotonnier

Deux méthodes sont couramment utilisées pour capturer les adultes d'*Helicoverpa armigera* : il s'agit des piégeages lumineux et des piégeages par phéromones sexuelles.

Pour l'analyse de l'origine trophique le long du gradient latitudinal du Bénin (Partie II) nous avons utilisé des pièges à phéromones (Fig. 17). Les phéromones sexuelles sont des molécules chimiques synthétisées sur la base des hormones sexuelles métabolisées par les femelles d'*H. armigera*. Les mâles sont attirés par les phéromones et piégés dans un pot. Afin d'analyser l'origine trophique dans le Nord du Bénin, nous avons piégé les individus à l'aide de pièges lumineux. Le protocole était le suivant : Dès la tombée de la nuit, à 18h30 le piège était disposé dans les champs (Fig. 17). Le piégeage durait 2h, de 18h30 à 20h30. Les adultes d'*H. armigera* attirés par la lumière se posaient sur le drap blanc ; ils étaient ensuite comptés, puis capturés et conservés dans l'alcool pour les analyses au laboratoire. Durant les deux années, nous avons piégé sur 21 points de piégeage (20 parcelles et 1 point témoin). Un site sans parcelles cultivées à 25 km d'Angaradébou, dans le parc naturel du W représentait notre point de piégeage témoin. Nous ne discuterons pas des résultats de piégeages sur ce point car aucun individu d'*H. armigera* n'y a été piégé.



Figure 17. Photographies de pièges d'adultes d'*H. armigera*. a) Piège à phéromone et b) Piège lumineux

Tableau 2. Tableau synthétique des types de paysages sélectionnés en fonction des hypothèses et du travail effectué.

Hypothèse	Contexte paysager	Piégeage lumineux (mesure abondance)		Comptage larve (mesure infestation)	
		2011	2012	2011	2012
Concentration de ressources	> 50% cotonnier	✓	✓	✓	✓
Hôte alternatif	> 50% maïs	✓	✓	✓	✓
	Présence de la tomate	-	✓	-	✓
Végétation naturelle	> 50% de végétation naturelle	✓	✓	✓	✓
Précédent cultural tomate	Indifférent	✓	✓	✓	✓

I-6-4 Analyses au laboratoire des adultes d'*Helicoverpa armigera*

Au laboratoire, nous avons pour objectif de mettre au point deux méthodes : l'une pour déterminer l'origine géographique et l'autre pour déterminer l'origine trophique. Concernant la détermination de l'origine géographique, il s'agissait dans ce travail de mettre au point une méthode de biologie moléculaire pour caractériser des profils bactériens des individus d'*H. armigera* piégés dans les différents paysages décrits ci-dessus. Il s'agissait par la suite de corrélérer les profils bactériens de ces individus à une zone géographique dont ils seraient originaires. Nous décrivons succinctement la méthode mise au point et les résultats qui en découlent dans la partie II-3 de la thèse. Afin de déterminer l'origine trophique des adultes d'*H. armigera* l'analyse s'est déroulée en deux temps : Dans un premier temps, nous avons prélevé les ailes des insectes pour analyser les isotopes stables de carbone ; Ensuite, nous avons mis au point des méthodes de détection de marqueurs du cotonnier (gossypol) et de la tomate (tomatine) chez les adultes d'*H. armigera* (partie IV-2). Il s'agissait de déterminer la plante hôte dont s'était nourri l'insecte durant sa phase larvaire.

I-6-5 Analyses statistiques

I-6-5-1 Démarche générale

La démarche générale d'analyse statistique a consisté dans ce travail à mettre en relation les éléments du paysage et la présence des individus d'*H. armigera* dans les parcelles sélectionnées. Dans ce travail de thèse, la présence d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier est caractérisée par cinq variables : 1) l'abondance relative des chenilles dans les parcelles, 2) la proportion de cotonniers infestés par au moins une chenille d'*H. armigera*, l'abondance des adultes piégés dans chaque paysage, 3) la proportion d'individus d'origine trophique C3 (individus détectés par analyses d'isotopes de carbone), et 4) la proportion d'individus d'origine trophique-coton (individus détectés positif au gossypol). L'objectif est de déterminer quels étaient les éléments du paysage qui agissaient sur la présence d'*H. armigera* dans une parcelle. Nous voulions aussi déterminer l'importance relative ou la contribution de chaque élément pour expliquer la présence des individus dans une parcelle. Pour atteindre cet objectif, nous avons modélisé cette relation en nous servant de deux méthodes adéquates pour chaque analyse : Un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) et une régression des moindres carrés partiels PLS (*Partial Least Squares Regression*) doublée d'un modèle généralisé (PlsGLM).

I-6-5-2 Problème de colinéarité et études d'écologie spatiale

Le choix de ces deux modèles analyses (GLMM et PLS) a été guidé par le souci principal de satisfaire les conditions de non-colinéarité entre les variables explicatives. En effet, les études d'écologie spatiale qui mettent en relation des objets du paysage sont très souvent confrontées à ce problème de colinéarité. C'est le cas de l'étude de Smith et al. (2009) qui se propose d'analyser les effets de la perte d'habitat et de la fragmentation. Les deux concepts étant très étroitement liés, il n'y a pas de doutes que les distributions des variables obtenues du terrain soient tout aussi corrélées. Plusieurs méthodes sont préconisées pour résoudre les problèmes de colinéarité dont l'une, des plus utilisées est de simplement supprimer du modèle de prédiction une des deux variables explicatives corrélées. Cependant Smith et al. (2009) mettent en garde vis-à-vis de ce procédé purement statistique. Ils précisent en effet que si deux variables représentent des processus ou mécanismes écologiques bien distincts, ils devraient ne pas être supprimés de l'analyse, l'objectif étant de répondre à une question d'écologique avec les statistiques comme outil et non l'inverse. En effet, le fait de

supprimer une variable entre deux variables corrélées engendrerait un biais dans l'analyse des résultats. Les coefficients des variables dans le modèle pourraient être soit surestimés ou sous-estimés. Une des erreurs souvent commises est de confondre colinéarité et corrélation (Dormann et al. 2012). Il y a corrélation entre deux variables lorsque les distributions des deux variables sont dépendantes : la variabilité de l'une implique celle de l'autre et inversement. Et la colinéarité est une conséquence de la corrélation entre variables du modèle et désigne une interdépendance entre les variables explicatives d'une régression linéaire multiple. Comme l'indique Foucart (2006) la colinéarité dans un modèle statistique peut avoir plusieurs conséquences dont l'instabilité des coefficients ce qui causerait des biais pendant l'analyse des résultats. Dormann et al. (2012) précisent que certes, une forte corrélation ($r > |0.7|$) entre deux variables indique une forte colinéarité mais que des variables fortement colinéaires peuvent avoir un coefficient de corrélation faible. Ainsi, il propose de considérer un problème de colinéarité que si les variables ont un coefficient de corrélation $r > |0.7|$.

I-6-5-3 Choix d'analyse : les modèles GLMM et PlsGLM

- Un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) :

Pour analyser les effets des éléments du paysage sur la présence de chenilles dans les parcelles de cotonnier, nous avons réalisé un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM), suivi d'une sélection de modèle basée sur le critère d'information d'Akaike corrigé (AIC_c) (Akaike 1974, Sanderson et al. 2009).

La régression linéaire désigne la mise en relation entre une variable à expliquer et une ou plusieurs variables explicatives. Elle permet ainsi de prédire la variable à expliquer en fonction de la (des) variable(s) explicative(s). La régression linéaire est dite généralisée lorsque i/la distribution de la variable à expliquer suit une loi autre que la loi normale (Poisson, binomiale), la distribution est alors affectée d'une fonction différente de la fonction linéaire (Nelder et Wedderburn. 1972). Dans notre travail, la variable à expliquer est représentée par la proportion de cotonniers infestés versus celle des cotonniers non infestés ; la distribution de cette variable est donc binomiale et nous l'avons affecté dans le modèle d'une fonction *logit*. Dans notre travail, nous avons ajouté une variable aléatoire (l'année) pour prendre en compte la dépendance entre les observations des deux années. En effet, les parcelles étaient parfois les mêmes entre les deux années. Le modèle analysé est donc un modèle mixte du fait de la présence de variables explicatives fixes et aléatoires.

Nous avons neuf variables explicatives dont cinq variables paysagères [la proportion en surface des couverts végétaux principaux (cotonnier, maïs, tomate, et végétation naturelle), l'hétérogénéité de chaque paysage (l'indice de diversité de Shannon)] et quatre variables agricoles [les fréquences de sarclage manuel et de traitement aux pesticides ; la date de semis et le précédent cultural]. Nous voulions déterminer quelles variables étaient plus ou moins importantes pour expliquer l'abondance d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier. Nous avons utilisé pour déterminer l'importance relative de chaque variable dans le modèle, l'approche théorique de l'information développée par Burnham and Anderson (2002); et repris par Kamil (2013). Cette méthode s'appuie sur le critère d'Akaike corrigé (AIC_c) en raison du grand nombre de variables explicatives (neuf variables explicatives) et du faible nombre d'observations (40 observations correspondant aux 40 parcelles sélectionnées). A partir du modèle saturé de toutes les variables explicatives, tous les modèles possibles sont générés ($2^9=512$ modèles) et assignés d'une valeur W_m (*Akaike Weight*) qui représente le poids du modèle ou encore la probabilité relative d'être le meilleur modèles de Kullback–Leibler dans un ensemble de n modèles (Sanderson et al. 2009). Un modèle est considéré comme le meilleur modèle ou le modèle le plus probable si $W_m > 0.9$. Il est également possible de générer des moyennes des meilleurs modèles pour plus de précisions. Cette analyse est développée dans la partie III de la thèse.

- La régression linéaire généralisée mixte des moindres carrés partiels (PlsGLM) :

La régression PLS est une méthode indiquée pour résoudre les problèmes de colinéarité entre variables explicatives. Nous avons rencontré cette situation lorsque nous voulions analyser les effets des éléments du paysage sur trois échelles de buffers concentriques (échelle au voisinage immédiat = 100m de rayon, intermédiaire = 250m de rayon et distance maximale = 500m de rayon). Les variables étant fortement corrélées ($r > |0.7|$). Pour cette étude nous avons 37 variables explicatives. En effet, cette méthode statistique est spécialement construite pour des situations où le nombre de variables explicatives est très grand comparé au nombre d'observations et/ou ces variables explicatives sont corrélées entre elles. La régression PLS est donc une méthode pour construire des modèles de prédiction quand les variables explicatives sont nombreuses et très colinéaires. La régression Pls est une association de l'algorithme développé pour l'analyse en composantes principales (NIPALS par Wold (1966) et de l'approche PLS proposée par Wold (1975) pour l'estimation des modèles d'équations structurelles sur les variables latentes (*Path models with*

latent variables), (Tenenhaus 1998). La régression PLS permet aussi d'intégrer la possibilité des données manquantes (ce qui n'était pas le cas dans notre étude).

Cette méthode d'analyse permet aussi de classer les variables explicatives par rapport à leur importance pour expliquer la (les) variables à expliquer : le coefficient VIP (importance des variables dans la projection) est généré pour caractériser l'importance de chaque variable explicative. Pour $VIP > 1$, la variable est considérée comme importante pour expliquer le modèle. Cette analyse est développée dans la partie IV-4 de la thèse.

**Partie II : Origine géographique des individus
d'*Helicoverpa armigera* présents dans le Nord
Bénin et le long d'un gradient latitudinal**

Il s'agit pour cette partie de la thèse de traiter de l'étude de l'origine géographique des populations d' *H. armigera*. Déterminer l'origine géographique des populations est une méthode indirecte pour identifier et caractériser les mouvements des ravageurs observés dans un endroit donné. La partie II-1 est une synthèse bibliographique des outils utilisés pour l'analyse de la migration. Dans les parties II-2 et II-3 sont présentés les résultats des mises au point méthodologiques réalisées pendant la thèse pour déterminer l'origine géographique des populations d' *H. armigera*. Ces mises au point concernent deux méthodes : la méthode d'analyse des isotopes stables d'Hydrogène et la méthode d'analyse de la flore bactérienne. Dans la partie II-4 nous présentons les résultats d'une étude de la dynamique des populations d'*H. armigera* le long du gradient sud-nord du Bénin. Nous avons analysé le déplacement graduelle des pics d'infestation entre les sites situés dans le sud et ceux situés dans le nord. Finalement, dans le point II-5, nous présentons une synthèse des précédentes parties et des perspectives d'amélioration des méthodes mises au point.

II- 1 : Revue de littérature: les outils pour l'analyse des déplacements des insectes

II-1-1 Introduction

Les programmes de gestion intégrée soulignent l'intérêt d'étudier la capacité de dispersion des ravageurs (Byrne et al. 1996 ; Rhino et al. 2010 ; Mazzi et Dorn, 2012). Andrewartha et Birch, (1954) ont montré que malgré une extinction locale, les mouvements des populations conduisaient à une recolonisation des parcelles cultivées. Ces mouvements favorisent de ce fait, la réintroduction des ravageurs dans les parcelles. Lecoq (1975) définit la capacité de dispersion comme étant la capacité pour les individus d'une espèce de s'éloigner plus ou moins vite (composante temps) et plus ou moins loin (composante espace) d'une aire biogéographique. Les auteurs dans la littérature s'accordent sur le fait que le déplacement d'un ravageur se caractérise par la durée, la distance parcourue ou l'objectif du déplacement (ponte, recherche de nourriture, abris, gréganisme). Les études de déplacement des insectes font référence à trois principaux types de déplacement pour décrire les mouvements des insectes: la migration, la dispersion et le déplacement trivial. Wiens (2001) définit le déplacement comme la probabilité pour qu'un individu couramment présent à un point « i » à

un temps t , se retrouve à un point « ii » à $t+1$. Les termes dispersion, migration ou mouvement trivial sont souvent utilisés pour décrire les déplacements des insectes.

La dispersion est un déplacement caractérisé par l'aspect permanent/définitif/sans retour au site originel et par la distance qui est de l'ordre du millier de km. Clobert et al. (2001), décrivent deux types de dispersion liée soit au site d'origine (natal area (NA)), soit au site de ponte : 1/ **Dispersion natale** correspond aux déplacements entre le site natal (NA) ou le groupe social natal (NSG) et le site ou le groupe social (BSG) où la ponte aura lieu et inversement (*Natal dispersion is the movement between the natal area or social group and the area or social group where breeding first takes place*) (Fig. 18). 2/ **Dispersion pour la reproduction** où les déplacements se font entre 2 sites successifs de pontes ou deux groupes sociaux successifs (*the movement between two successive breeding areas or social groups*) (Fig.18b).

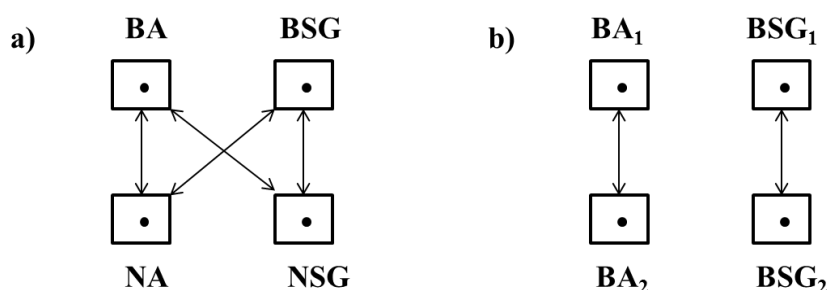


Figure 18. Schéma descriptif des différents modes de dispersion. (a) Dispersion natale – b) Dispersion pour la reproduction. Légende : BA= site de ponte « Breeding area » ; NA= site natal « natal area » ; BSG= Groupe social où aura lieu la ponte « Breeding social group » ; NSG= « natal social group » d'après la définition obtenue de Clobert et al. 2001 (intro). La double flèche n'indique pas un aller-retour mais un déplacement qui peut se faire dans les deux sens, soit dans l'un soit dans l'autre. Adapté de Clobert et al. (2001)

La migration correspond aux déplacements saisonniers sur de longues distances; c'est le cas des déplacements saisonniers des populations de monarques (*Danaus plexippus*) étudiés par Wassenaar et Hobson (1998). Roff et Fairban (2001), décrivent la migration comme: « *un déplacement permanent ou saisonnier sur de longues distances d'un organisme d'un point à un autre* ». Weisser et al (2001) décrivent 3 étapes dans le processus de la migration : l'émigration, le transit et l'immigration. L'émigration correspond au départ d'un individu ou d'une population de son site natal. L'immigration correspond aux processus de sélection d'un

habitat convenable et d'établissement dans ce nouvel habitat. Et le transit qui est le processus intermédiaire de déplacement proprement dit.

Les déplacements triviaux (ou vols triviaux) représentent tous les autres types de déplacements des ravageurs. Ce sont les mouvements banals du quotidien ou déplacements de routine (Byrne et al. 1996 ; Mazzi et Dorn. 2012); il peut s'agir dans ce cas des déplacements d'une plante hôte à une autre, d'une parcelle à une autre voisine. Les distances sont par conséquent variables de l'ordre de quelques mètres.

Pour la suite de ce travail de thèse, nous adopterons le vocabulaire suivant :

Dispersion : Déplacement permanent sur longue distance

Migration : Déplacement saisonnier (avec possibilité de retour) sur longue distance. L'étude de Feng et al. 2009 a montré des mouvements migratoires des populations d'*Helicoverpa armigera* entre le Nord et le sud de la Chine à travers la mer de Bohai. À l'aide des radars, ils ont montré que les adultes d'*H. armigera* migraient vers le Nord dès le printemps et redescendaient une génération après vers le Sud en automne pour pondre des œufs. La nouvelle génération passait le stade diapause et repartait vers le Nord juste après émergence au début du printemps. Les individus volaient à une altitude de 1500m avec une vitesse allant jusqu'à 40 km/h.

Mouvement trivial : Déplacement de routine de l'ordre de quelques centaines de mètres. Ce type de mouvement est observé dans les populations de larves d'*H. armigera*. Kakimoto et al (2003) a observé que les populations de larves évoluaient de la distribution « agglutinée » vers « uniforme » à partir du 5^{ème} stade larvaire. En effet, les femelles pondent les œufs par paquets, et après éclosion, on observe un comportement de cannibalisme. Puis, lorsque les ressources sont insuffisantes, les larves se déplacent d'un organe fructifère à un autre de la même plante hôte ou d'une plante hôte à une autre voisine. Si les ressources sont suffisantes, les larves ne se déplacent pas. Ces déplacements sont un exemple de mouvements triviaux.

L'étude des déplacements des insectes peut se faire de manière directe (intrinsèque) ou indirecte (extrinsèque) comme proposés par Hobson et Wassenaar (2008) qui décrivent les outils d'analyse de la migration. Dans cette partie, les outils directs sont ceux qui apportent des informations précises sur la localisation des insectes, c'est l'exemple des signaux transmis par les radars qui permettent de suivre les déplacements des populations d'insectes. Les outils

indirects apportent des informations qui sont analysées et ensuite indirectement reliées à l'origine de l'individu analysé et donc à ses déplacements. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons mobilisé à la fois les outils directs et indirects pour l'analyse de l'origine géographique.

II-1-2 Les outils directs

II-1-2-1 Les progrès de la télémétrie

Les progrès de la télémétrie notamment de la radio-télémétrie ont amélioré les études de migration des populations des insectes. Les études de Schaefer (1976), ont permis de comprendre que la télémétrie pouvait apporter des réponses aux questions sur la migration des insectes.

Le développement des radars entomologiques a permis d'étudier les déplacements des insectes (Chapman et al. 2002, 2003). Le mot radar issu de l'acronyme de *Radio Detection and Ranging*, décrit un système de détection par radio. Le système est basé sur l'utilisation des ondes radio pour détecter la présence et déterminer la position des insectes (Drake et Reynolds 2012). Ce système de détection est l'un des plus anciens outils de détection à distance. En 1968, Schaefer utilisait déjà des radars entomologiques pour analyser les déplacements des insectes ravageurs. Avec les avancées technologiques, plusieurs types de radars entomologiques existent aujourd'hui. i/ Les radars verticaux utilisés pour repérer et détecter les insectes volant à très haute altitude (150 m – 1200 m). Drake et al. (2001) ont étudié les déplacements de la noctuelle *Helicoverpa punctigera*, ravageur du cotonnier en Australie à l'aide des radars verticaux. ii/ Les radars à balayage sont utilisés pour déterminer la trajectoire de vol des insectes à basse altitude. La technique nécessite la pose d'un micro-transmetteur sur l'insecte. Hedin et Ranius (2002) ont suivi à l'aide de cette technique des coléoptères (*Osmoderma eremita*) et ont déterminé une distance seuil de détection à l'aide de cette technique allant jusqu'à 330m. Cette méthode a également été expérimentée par Lorch et al. (2005) pour tester l'hypothèse selon laquelle les populations de sauterelles mormones (*Anabrus simplex*) présentaient des stratégies de vol différentes selon qu'elles étaient ravageuses ou non. Ils ont montré à l'aide de ces radars que les mouvements des sauterelles mormones pouvaient être influencés par la direction du vent et les conditions environnementales locales. iii) les radars harmoniques encore plus sensibles que les autres

types de radars, utilisés pour suivre les déplacements de faible vitesses comme ceux des populations de coléoptères (Osborne et al. 1999 ; Riley et al. 2002 ; Chapman et al. 2002 ; Colpitts et al. 2004 ; Wikelski et al. 2007). Ces radars se basent sur l'utilisation d'un système de scan (Riley et Smith, 2002).

Les progrès ont été faits dans la construction des émetteurs satellites plus légers (la plus légère balise satellite pèse 9.5 g. Cet outil est basé sur le même principe que le radar à balayage : une balise est fixée sur l'insecte étudié, et le signal est repéré par un satellite. La différence dans ce cas est que le satellite n'est pas fixe et en tournant autour de la terre la zone d'étude est plus grande. À l'exception des émetteurs satellites, toutes les autres méthodes requièrent deux phases de capture (capture-recapture). Pour pallier à ces inconvénients, les auteurs sont obligés de coupler ces méthodes à d'autres méthodes de suivis directs des insectes. C'est le cas de l'étude de Chapman et al (2002) qui combinent les piègeages lumineux au sol aux radars aériens pour déterminer la dynamique de migration d'une espèce ravageuse de chou *Plutella xylostella*.

L'utilisation des outils de la télémétrie pour analyser les déplacements des insectes présente plusieurs avantages. i) La taille des populations suivies: la radiodétection offre la possibilité de suivre un grand nombre d'individus ce qui apporte plus de précisions pour les analyses statistiques des données. ii) La précision : la trajectoire et la localisation des insectes suivis sont précises, de l'ordre de la centaine de mètres (Lorch et al. 2005). Malgré tous ces avantages, les outils de télémétrie présentent aussi des inconvénients. i) les radars peuvent influencer le comportement des populations d'insectes suivis ; en effet, les transmetteurs fixés sur le l'abdomen des insectes peuvent influencer le comportement des insectes. ii) le coût de l'appareillage est souvent élevé selon le nombre d'appareil et la précision désirés. iii) la durée de vie de l'émetteur des radars détermine très souvent la durée de l'étude et fausse par conséquent les résultats d'analyse des déplacements des insectes.

II-1-2-2 Capture – Marquage – Recapture

La méthode consiste à une capture, un marquage et ensuite une recapture des insectes. Il s'agit de marquer les insectes à la première capture, puis de procéder à des comptages à la deuxième capture. Les individus sont marqués à l'aide des bagues, des balises et parfois de substances chimiques permanentes. C'est le cas de l'étude de Fitt et al. (1995) en Australie,

où les individus étaient marqués au strontium à l'état larvaire puis recapturés à l'état adulte par des piégeages à phéromones. Cette combinaison d'outils a permis d'analyser les mouvements des populations d'*H. armigera*. Selon les espèces étudiées, il existe plusieurs types de piégeages : les piégeages lumineux pour les insectes nocturnes, le filet aérien, le filet normal, les piégeages à tentes.

Pour ce travail de thèse, nous n'avons pas utilisé ces outils à cause des nombreux inconvénients décrits ci-dessus. En effet, indépendamment du coût de l'appareillage, cette méthode nécessite une longue période pour la maîtrise de la zone d'étude et de mise en place de l'appareillage.

II-1-3 Les outils indirects

II-1-3-1 les marqueurs isotopiques

Il s'agit pour cette méthode d'analyse des isotopes stables d'éléments légers de C, H, N et O. Cette méthode est utilisée depuis longtemps dans les domaines de la physique, de la géologie, et bien d'autres. Hobson et Norris (2008) rapportent que c'est la publication de Rundel et al. (1988) qui constitue l'un des premiers ouvrages en écologie mettant en application l'utilisation des isotopes stables dans les domaines des sciences de l'écologie et des sciences environnementales. Cette méthode se base sur le principe de variation du ratio des isotopes stables d'un élément en fonction des précipitations (isotopes stables d'hydrogène, δH), du type photosynthétique de la plante hôte (isotopes stables de carbone, δC) et d'autres facteurs environnementaux. L'utilisation de cette méthode pour l'analyse de la dynamique des populations dans le domaine de l'écologie repose sur l'analyse des tissus organiques qui une fois générés ne sont plus (ou très peu) sujets au métabolisme général de l'organisme et donc conserve une signature isotopique liée à leur origine géographique ou trophique en fonction de l'isotope stable analysé. Chez les insectes, les ailes et la chitine sont utilisées pour ces analyses qui permettent de connaître l'origine trophique et géographique des larves (Gould et al. 2002). Les valeurs d'isotopes stables d'hydrogène sont calculées suivant cette formule décrite par Werner et Brand (2001):

$$\delta X = \left[\left(\frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{control}}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

où « X » représente l'élément chimique analysé (C, H, N...), « R » correspond au ratio entre la masse de l'élément considéré ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$...) et la valeur « δX » représente le ratio de la masses d'isotopes de l'élément considéré par rapport à un ratio standard (R_{control}) pour mile

a) Les isotopes stables d'hydrogène (δH : Deutérium et Protium).

Les données d'isotopes stables d'Hydrogène sont utilisées généralement pour les études de migration aussi bien chez les insectes que chez d'autres animaux. Bien que ce soit généralement les isotopes Protium (^1H) et Deutérium (^2H) qui sont le plus souvent rencontrés dans la littérature pour les études de migration, il existe un 3ème isotope d'hydrogène très peu utilisé en raison de sa rareté: le tritium (ou Hydrogène3) (Gurov et al. 2004). Pour les études de migration des insectes, le ratio $^2\text{H}/^1\text{H}$ (δH) obtenu des ailes est analysé et corrélé à celui de l'eau de précipitation des points géographiques spécifiques. L'origine géographique des populations d'insectes est alors déterminée en superposant les valeurs de δH obtenues des ailes des insectes à celles obtenues de l'eau de précipitation. Pour améliorer la précision des résultats, il est nécessaire de mesurer au préalable le fractionnement isotopique ; en effet, il existe une différence entre le ratio isotopique (δH) obtenu des ailes ou chitine des insectes et le ratio isotopique de l'eau de précipitation. Cette différence représente le fractionnement isotopique qui est constant pour une population.

Depuis une vingtaine d'année, cette méthode connaît un essor dans l'étude de la migration des populations. Dans la littérature plusieurs études utilisent les isotopes stables d'hydrogène pour comprendre les déplacements des populations d'insectes. Notamment, Wassenaar et Hobson (1998) ont déterminé en analysant les isotopes stables d'Hydrogène, les différentes étapes de la longue migration saisonnière des monarques (*Danaus plexippus*) du Mexique vers le Nord de l'Amérique. En France, Ouin et al. (2011) ont également utilisé les valeurs d'isotopes d'Hydrogène pour déterminer l'origine géographique du syrphe (*Episyrphus balteatus*), un auxiliaire prédateur de pucerons des céréales.

L'analyse des isotopes stables d'Hydrogène est l'un des outils les plus précis pour l'étude de la migration des populations d'insectes. En effet, les variations des valeurs d'isotopes d'Hydrogène (Fig. 19) sont connues et régulières à travers le globe terrestre et dépendent de la latitude à laquelle les éléments se sont formés dans l'atmosphère (Bowen et al. 2005a). Donc, pour un point latitudinal donné, la variation d'isotope d'H est fixe. Cependant, cette méthode

connait des limites. Les déplacements de courtes distances ne peuvent pas être analysés en utilisant les isotopes stables d'hydrogène. En effet, si les individus se déplacent sur des distances latitudinales relativement courtes où la variation entre les valeurs isotopiques est fiable, la méthode est inefficace (Ouin et al. 2011). De plus, le coût des analyses élevé peut être une contrainte pour des études. Hobson et Wassenaar (2008) ont également relevé un problème d'échange des atomes d'hydrogène ; en effet, même si le rapport isotopique mesuré ne peut varier dans les tissus inertes analysés, il existe quand même des proportions échangeables avec la vapeur d'eau ambiante ; ceci pourrait apporter des biais pour l'analyse des résultats. Cette variation est également applicable aux produits standards, il s'avère compliqué de trouver des standards dont les valeurs de δH ne varient pas, entre les laboratoires, du fait d'une variation de δH de la vapeur d'eau ambiante.

La partie II-2 de cette partie de la thèse présente une étude sur la mise au point méthodologique des isotopes stables d'hydrogène sur un échantillon d'individus *Helicoverpa armigera* piégé entre le Sud et le Nord du Togo, en Afrique de l'Ouest. L'objectif de vérifier l'utilisation de cette méthode pour l'analyse de l'origine géographique des populations d' *H. armigera* en Afrique de l'ouest.

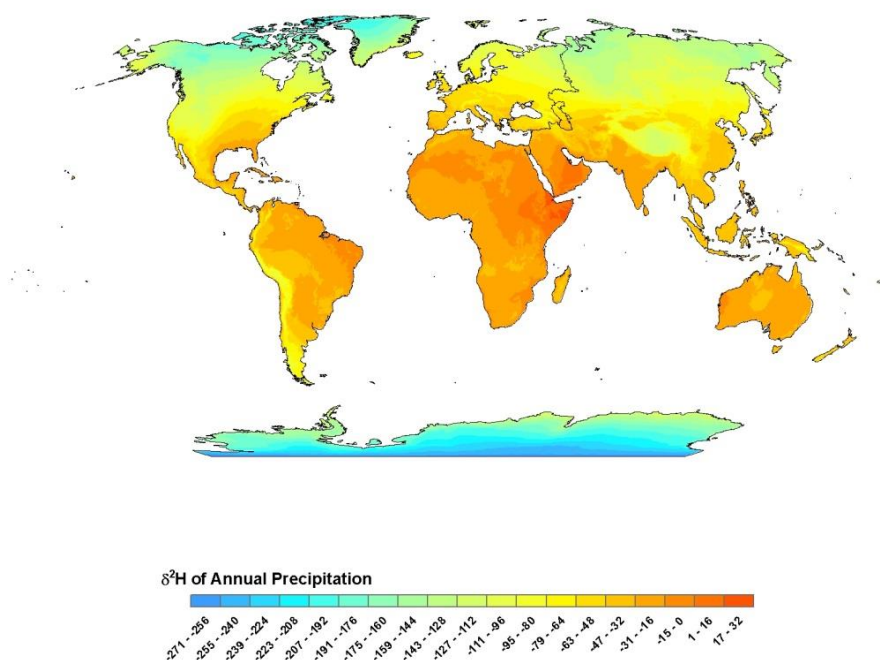


Figure 19. Carte mondiale de répartition de de δ^2H (www.waterisotopes.html)

b) Les isotopes stables du carbone

L'analyse des isotopes du carbone est généralement utilisée pour déterminer l'origine trophique des individus. La connaissance de l'origine trophique peut apporter des informations sur l'origine géographique. Cette méthode se base sur le principe que les plantes hôtes de type photosynthétique différent (plantes en C₄, plantes en C₃) laissent dans les tissus inertes (ailes, chitine) des insectes des signatures isotopiques différentes (Wassenaar et al. 2000). Dans le cas des isotopes stables de carbone il s'agit du rapport des isotopes de carbone (δC) C₁₂ et C₁₃ ($^{12}C/^{13}C$).

L'utilisation des isotopes stables de carbone est très répandue aujourd'hui pour comprendre le régime alimentaire des insectes et déduire leur origine trophique. La connaissance de leur origine trophique améliorerait les stratégies de lutte contre les insectes ravageurs dans les systèmes agricoles. Gould et al. (2002) illustrent bien l'utilisation des δC . Ils ont déterminé l'origine trophique des adultes de *Helicoverpa zea* piégés (lieu de piégeage : Louisiane et Texas). Ils montrent que les individus d' *H. zea* élevés sur du cotonnier (plante de type C₃) ont un rapport δC ($^{12}C/^{13}C$) différent de ceux élevés sur du maïs (plante de type C₄). Après avoir déterminé qu'en octobre 100% d'individus avaient une origine trophique C₄ alors que le maïs plante en C₄ majoritaire était déjà récolté au moment du piégeage (octobre), ils en ont déduit que ces populations d'individus étaient des migrants, originaire du Sud (Mexique) où la végétation était encore composée de maïs à cette époque de l'année. Plusieurs études utilisent le rapport δC pour déterminer la contribution du cotonnier dans l'abondance des ravageurs du cotonnier et notamment l'importance des zones refuges par rapport au cotonnier et au maïs transgéniques (Brevault et al. 2008 ; Head et al. 2010 ; Baker et Tann. 2012). Pour ce travail de thèse, nous avons analysé les isotopes stables de carbone pour déterminer l'origine trophique des adultes d'*H. armigera* piégés dans le nord du Bénin. Les résultats sont présentés dans le point 4 de cette partie et dans la partie IV.

c) Les autres isotopes stables (δN , δO , δS , δSr)

Les isotopes stables de carbone et d'hydrogène sont les plus utilisés dans les études de migration des insectes. Outre ces isotopes, il existe d'autres isotopes stables qui sont certes moins utilisés que les isotopes stables de carbone et d'hydrogène mais qui aident aussi à la compréhension de la migration des insectes. ce sont les isotopes stables d'azote (δN : $^{15}N/^{14}N$) ; d'Oxygène (δO : $^{16}O/^{18}O$), de Soufre (δS : $^{34}S/^{32}S$), de stontium (δSr : $^{87}Sr/^{86}Sr$).

Les rapports isotopiques $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ et de $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ comme celui du carbone renseignent sur le régime alimentaire des espèces étudiées, l'origine géographique peut être déduite par la suite. Hobson et Wassenaar (2008) caractérisent ces isotopes de spatio-locaux «local-spatial isotopes» parce que les résultats obtenus apportent aussi des informations sur les déplacements locaux des populations étudiées.

Les isotopes de O apportent comme les isotopes d'hydrogène, des informations sur l'origine géographique des espèces étudiées.

II-1-3-2 les marqueurs moléculaires

Les études de génétique des populations ont largement contribué à la compréhension des flux migratoires. En effet, les flux migratoires d'une population peuvent être analysés via la diversité génétique de la population (Sunnucks, 2000). Slatkin (1985) montre que l'étude des flux de gènes d'une population peut servir de paramètre pour l'analyse de la dispersion. Les marqueurs moléculaires sont des fragments d'ADN qui sont associés à une part du génome. L'analyse de ces marqueurs dans une population permet de déterminer la structure génétique de la population ; entre plusieurs populations ces marqueurs aident à déterminer des variations ou similitudes génétiques. Des échanges de gènes ou flux de gènes peuvent être déduits de ces analyses. Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires. Les plus courants sont les marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) et les marqueurs microsatellites.

Les marqueurs RAPD ou ADN polymorphe amplifié au hasard sont très peu utilisés dans les études de génétique des populations, à cause de la difficulté à reproduire la technique (Xu et al. 2002). A l'aide des marqueurs AFLP, Martinelli et al (2007) ont analysé la diversité génétique des populations de la noctuelle *Spodoptera frugiperda* piégées dans les parcelles de maïs et de cotonnier au Brésil. Ils ont montré que les populations n'étaient pas spécifiques à la plante hôte et que les populations infestant les parcelles de cotonnier pouvaient également infester les parcelles de maïs. Dans ce même but, en Iran, Mozaffarian et al (2007) ont utilisé les marqueurs AFLP pour analyser les flux de gènes des populations de la pyrale de la grenade *Ectomyelois ceratoniae*. Ils ont montré qu'il n'y avait peu ou presque pas de migration et que les populations de pyrales d'origine géographique différente étaient

génétiquement bien distantes entre elles. Ils ont montré aussi qu'il n'y avait pas de spécificité des individus d'une population donnée à la plante hôte.

Les microsatellites sont des séquences d'ADN répétées en tandem courts de un à six nucléotides comme unité de répétition. Dans le domaine de la génétique des populations, les marqueurs microsatellites sont les plus utilisés parce qu'ils présentent un taux de mutations élevé qui améliore l'estimation de la diversité dans une population ou entre populations (Sunnucks 2000). Dans les populations d'*H. armigera* en Australie, Scott et al (2005) sur 5 années d'étude (de 1999 à 2003) ont montré que les populations d' *H. armigera* ne présentaient pas le même schéma de migration tous les ans. L'étude a permis de corréler les flux génétiques aux flux migratoires. Par exemple, ils ont observé, pour les années 2001-2002, qu'il y'avait peu de variation génétique entre les populations de régions différentes et peu d'isolation par distance et inversement pour les autres années. Ils ont conclu que les déplacements des populations d'*H. armigera* pendant les années, autres que 2001-2002, étaient des déplacements locaux de courtes distances et que les populations entre régions ne se mélangeaient pas alors que pour les années 2001-2002 les déplacements étaient plutôt sur de longues distances. Malgré ces résultats, plusieurs études montrent que l'analyse des microsatellites pour déterminer la structure des populations des lépidoptères en général n'est pas toujours satisfaisante. Endersby et al (2007) ont analysé 8 microsatellites des populations d'*H. armigera* de la région de Victoria en Australie. L'étude a conclu qu'il n'y avait pas de structuration génétique ni entre les populations échantillonnées à différents endroits ni entre populations échantillonnées à des temps différents.

Malgré l'intérêt des microsatellites pour les études de migration, cet outil présente des inconvénients quant à leur utilisation pour l'analyse des populations de Lépidoptères. Des études montrent que le développement des microsatellites chez les lépidoptères est à la fois laborieux et sans garantie de résultats (Zhang 2004; Delamaire 2009, Nève et Meglécz 2000). Cette difficulté de développement des microsatellites serait liée à un déficit en loci microsatellites chez les lépidoptères (Zhang 2004; Delamaire 2009) et une forte proportion d'allèles nuls (Sinama et al. 2011). Vassal et al (2008) après avoir rencontré des difficultés pour déterminer la structure génétique des populations d'*H. armigera* piégés en Afrique centrale et de l'ouest, ont remis en cause l'utilisation des microsatellites pour l'analyse des déplacements des insectes lépidoptères.

Une autre technique de biologie moléculaire consiste à l'analyse de la flore bactérienne (ou profil bactérien) présente dans et sur le corps d'un insecte. Il s'agit d'analyser le polymorphisme bactérien présent chez un individu au sein d'une population. En effet, les insectes forment avec les communautés bactériennes qui partagent leur habitat des associations pathogéniques ou symbiotiques (Ferrari et Vavre 2011). Le profil bactérien d'un lieu géographique ou d'un habitat peut être alors corrélée à celle observée dans /sur l'abdomen d'un individu. La méthode utilisée pour l'analyse de la flore bactérienne est la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) l'électrophorèse sur gel par gradient dénaturant (Myers et al. 1985). Il s'agit d'amplifier la région 16S de l'ADN ribosomale bactérien afin d'analyser le polymorphisme des populations de bactéries hébergées par l'insecte (Muyzer 1993). Les études de Rani et al. 2009 ; Zouache et al. 2011 sur la flore bactérienne hébergée par les populations des moustiques (*Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* et *Anopheles stephensi*) ont montré que la flore bactérienne peut être spécifique à un habitat donné. Cette technique est également utilisée pour connaître l'origine géographique des denrées alimentaires : fruits et poissons (Le Nguyen et al. 2008a, 2008b). Une analyse bibliographique de l'utilisation de cette méthode chez d'autres taxons nous a permis de prendre connaissance des autres facteurs influençant la flore bactérienne. Ainsi, Les études de Mrazek et al (2008), sur les guêpes *Vespula vulgaris* et *Vespa crabro* et celles de Reeson et al (2003) sur la guêpe *Vespula germanica* ont conclu qu'il fallait exclure toutes corrélations entre l'origine géographique, la taille du nid, l'âge des guêpes, la saison climatique et les profils des communautés bactériennes hébergées par les guêpes. Sur des populations de la noctuelle *H. armigera* élevées au laboratoire, Hui Xiang et al. (2006) et Priya et al. (2011) montrent que la flore bactérienne peut être aussi liée au régime alimentaire. Des études sur des populations du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* montrent que le polymorphisme des bactéries hébergées par ces criquets dépend aussi de l'âge des insectes et de leur état de satiété (famine) (Dillon et al. 2010).

Encouragé par le travail de Zouache et al (2011) et de Rani et al (2009) sur les moustiques, nous avons essayé de mettre au point l'analyse de la flore bactérienne hébergée par les individus d'*H. armigera* pour déterminer leur origine géographique (partie II-3). A notre connaissance, aucune étude n'a encore mis au point cette technique chez cette noctuelle. Les résultats de l'étude de Vassal et al. (2008) ne nous ont pas encouragé à utiliser les marqueurs microsatellites pour déterminer leur origine géographique. Il ressort de notre travail que la méthode DGGE pour analyser les déplacement des insectes devrait être complétée par

d'autres analyses. Nous présentons ensuite quelques perspectives suite aux résultats obtenus (partie II-3).

II-1-3-2 les autres marqueurs

a) Le pollen

Une grande majorité d'insectes se nourrissent de pollen des plantes à fleur. La surface épineuse du grain de pollen favorise son accrochage (adhésion) sur le corps des insectes qui s'en approchent (Moore et al. 1991, Hagler et Jackson 2001). Les premières études qui suggèrent l'utilisation des grains de pollen comme marqueurs de migration chez les insectes sont celles de Mikkola (1971). Plusieurs études aujourd'hui utilisent le pollen comme marqueur de migration (Gregg, 1993, Westbrook et al. 1997, Xu et al. 1999, Hagler et Jackson 2001 ; Jones et Jones 2001 ; Silberbauer et al. 2004). Pour suivre les déplacements des insectes, les grains de pollen retrouvés sur le proboscis ou dans l'abdomen des insectes sont identifiés et classifiés à l'aide des techniques de microscopie précises telles que la microscopie optique (Light Microscopy) ou la microscopie électronique à balayage (Scanning Electron Microscopy) (Hagler et Jackson 2001 ; Silberbauer et al. 2004): la présence de grains de pollen appartenant à une plante inhabituelle dans une région ou d'une espèce qui n'est pas en période de floraison à la date des piégeages des insectes prédit un long déplacement de l'insecte analysé. Par exemple, Gregg (1993) a analysé les grains de pollen transportés par des noctuelles *H. punctigera* et *H. armigera* piégés en Australie. Ses résultats ont montré que plus de 10 % des individus piégés dans l'Est Australien transportaient des grains de pollen de plantes qui n'étaient pas présentes dans cette région, ou présentes mais pas en floraison pendant cette période de piégeage.

L'utilisation du pollen comme marqueurs de migration présentent de nombreux avantages notamment : la majorité des insectes se nourrissent ou s'approchent des grains de pollen durant leur cycle de vie, donc le pollen peut être retrouvé sur plus de 85% des insectes piégés (Silberbauer et al. 2004) ; la surface du grain de pollen est constituée d'une couche solide de protéine (pollenium) qui rend le grain résistant aux intempéries (Hagler et Jackson 2001). Le pollen étant un marqueur naturel, il aura moins d'effet sur le comportement de l'insecte (Silberbauer et al. 2004).

Cet outil présente toutefois des inconvénients. Hagler et Jackson (2001) ; Del Socorro et Gregg (2001) présentent 3 principaux inconvénients : i) le temps de préparation des insectes pour l'identification des grains de pollen est très long ; ii) le coût des analyses est très élevé et il est impératif d'avoir une carte de répartition géographique (atlas) des plantes à fleurs correspondant aux grains de pollen analysés. iii) De plus, l'utilisation des grains de pollen comme marqueurs de migration limite la période d'étude aux cycles de floraison des plantes à fleurs.

Nous n'avons pas utilisé cette méthode pour ce travail de thèse. La zone d'étude située dans une région tropicale, la majorité des plantes à fleur fleurissent pendant le pic d'infestation d'*H. armigera*. Ceci aurait pu masquer ou encombrer le signal de déplacement des *H. armigera* et donc rendre inefficace l'utilisation du pollen comme marqueur pendant cette période dans ce contexte paysager (tropical).

b) Les marqueurs d'insecticides

Les ravageurs exposés à des pesticides peuvent conserver dans leur organisme les molécules chimiques du produit pesticide utilisé. Si la répartition géographique des pesticides impliqués est connue, alors une corrélation peut être trouvée entre le type de pesticides détecté dans l'organisme de l'insecte et l'origine géographique de ce dernier (Wu et Guo 2000). L'analyse des niveaux de résistance aux pesticides d'insectes polyphages prélevés sur différentes plantes hôtes traitées et non traitées peut permettre également de connaître les mouvements de ces insectes au sein d'un paysage (Brevault et al. 2008).

c) Les cytochromes (P450).

Les Cytochromes P450 sont des enzymes présentes chez les ravageurs qui sont impliquées dans les mécanismes de résistance contre les pesticides et de tolérance aux toxines des plantes hôtes (Feyereisen et al. 1995 ; Scott 1999). En présence d'une plante hôte spécifique, les ravageurs expriment une enzyme CytP450 particulière. Il peut être intéressant d'analyser l'enzyme exprimée par rapport à une plante hôte spécifique afin d'étudier l'origine trophique et d'en déduire l'origine géographique en tenant compte de l'atlas de la couverture végétale de la zone d'étude.

I-1-4 Conclusion

L'étude des déplacements des insectes ravageurs représente un enjeu aujourd'hui pour améliorer les programmes de lutte contre les ravageurs. Dingle et Drake (2007) montrent que les ravageurs se déplacent à la recherche de ressource, de site de reproduction, d'abris. Selon que ces déplacements sont permanents, saisonniers ou simplement des mouvements de routine, les termes dispersion, migration et mouvements triviaux sont utilisés pour décrire ces déplacements. Plusieurs outils ont été développés pour analyser ces déplacements. Les progrès de la télémétrie, la télédétection, les analyses d'isotopes stables de carbone et de l'hydrogène, l'analyse des marqueurs moléculaires et des marqueurs naturels (pollen) permettent de suivre les déplacements des insectes. Il est également important de prendre en compte la capacité de dispersion des espèces pour obtenir des résultats fiables (Mazzi et Dorn, 2012). Pour ce travail de thèse, nous avons utilisé les marqueurs d'isotopes stables de l'hydrogène et l'analyse de la flore bactérienne (DGGE) pour comprendre les déplacements des populations d'*H. armigera*. Ces deux méthodes nous ont semblé les plus fiables, les moins coûteuses en temps et en moyens financiers. Dans les parties II-2 et II-3 suivantes nous présentons les résultats des mises au point de ces deux méthodes. Les marqueurs moléculaires sont également utilisés par plusieurs études pour analyser la diversité génétique intra et inter populations et donc analyser les mouvements des individus. Les microsatellites sont particulièrement intéressants pour ces analyses. Cependant, le développement de ces marqueurs chez les lépidoptères est très laborieux et parfois sans garantie de résultats à cause du déficit de *loci* chez cet ordre d'insectes. Notamment, l'étude Vassal et al. (2008) sur des populations d'*H. armigera* piégés en Afrique de l'Ouest n'ont pas abouti à des résultats convaincants. Pour toutes ces raisons, nous avons privilégié les analyses d'isotopes d'hydrogène et de la flore bactérienne pour comprendre l'origine géographique d'*H. armigera* dans ce travail de thèse.

II- 2 Mise au point méthodologique : Analyse des isotopes stables d'hydrogène pour comprendre les déplacements d'*Helicoverpa armigera* en Afrique de l'Ouest.

II-2-1 Objectifs de l'étude

L'analyse d'isotopes stables d'hydrogène apporte des informations sur les déplacements d'une espèce et par conséquent sur son origine géographique. Cette méthode se base sur le fait que les valeurs d'isotopes d'hydrogène présentes dans l'eau de précipitation sont prévisibles et spécifiques à chaque continent/région du globe terrestre et que ces isotopes seraient transférés des précipitations vers les plantes puis des plantes vers les consommateurs de niveau trophique I (herbivores) avec un indice de fragmentation plus ou moins faible (Wassenaar et Hobson 2003).

Wassenaar et Hobson (1998) ont déterminé l'origine géographique du monarque en analysant les isotopes stables d'hydrogène des ailes des adultes ainsi que les différentes étapes de leur voyage saisonnier du Mexique vers le Nord de l'Amérique. De même, Brattstrom et al (2008) ont analysé la composition en isotopes stables d'Hydrogène pour définir les étapes de migration et l'origine du paon européen, le lépidoptère *Inachis io*. Ces deux études montrent que les isotopes stables d'Hydrogène sont des outils fiables pour étudier l'origine géographique chez les insectes.

Les objectifs de cette étude sont : i) Mettre au point cette méthode d'analyse des isotopes stables d'hydrogène pour étudier l'origine géographique des individus d'*Helicoverpa armigera* et ii) Déterminer l'origine géographique d'un échantillon d'individus. Nous espérons ensuite utiliser cette méthode pour analyser les différentes étapes de migration et l'origine géographique des individus adultes d'*H. armigera* qui seront piégés pendant les campagnes de terrain dans le Nord Bénin.

II-2-2 Matériel et méthodes

Nous avons au début de la thèse à notre disposition un échantillon de 18 individus d'*H. armigera* piégés dans des pièges à phéromone au Togo, pays frontalier du Bénin. En effet, le Togo est situé à la même latitude que le Bénin et possède les mêmes caractéristiques

climatiques que le Bénin. Le Togo s'étire également sur environ un millier de kilomètres entre la côte atlantique au Sud, vers la zone sub-saharienne au Nord comme le Bénin. Les individus ont été piégés sur deux sites : à Tantigou (10°50'55.92"N - 0°12'1.50"E) dans le Nord et Amoutchou (7°25'49.04"N - 1° 9'52.85"E) dans le sud du Togo (Fig. 20, Tab 3). Les individus ont été piégés pendant la saison sèche 2010 (avant mai 2010) et pendant la saison des pluies 2010 (Entre mai et novembre 2010). Nous avons sélectionné ces deux périodes parce que nous estimons que l'eau des précipitations pourrait influencer les valeurs des isotopes stables d'hydrogène. Les adultes d'*H. armigera* piégés ont été conservés dans de l'alcool (70%) puis acheminés au laboratoire IsoAnalytical, prestataire de service, situé en Grande Bretagne pour l'analyse des isotopes stables d'hydrogène.

Nous avons ensuite réalisé des simulations sur un logiciel proposé par le siteweb waterIsotopes.org (OIPC =Online Isotopes in Precipitation Calculator) géré par des géophysiciens (West et al. 2010). Ce logiciel permet de calculer des valeurs simulées d'isotopes stables d'hydrogène de l'eau qui correspondraient à un point géographique donné. Cette simulation est basée sur un large échantillon de données de valeurs isotopiques d'hydrogène récoltées sur plusieurs points (coordonnées latitudes) globe terrestre. Les simulations réalisées concernaient trois points GPS représentant le Sud, le Centre et le Nord du Togo. L'objectif était de vérifier s'il existait une différence significative des valeurs d'isotopes d'hydrogène entre ces trois points.

Tableau 3. Nombre d'individus d'*H. armigera* mâles dont les ailes ont été analysées pour déterminer les variations d'isotopes stables d'hydrogène.

	Avant la saison des pluies	Après la saison des pluies
Tantigou (Nord Togo)	5	5
Amoutchou (Sud Togo)	5	3

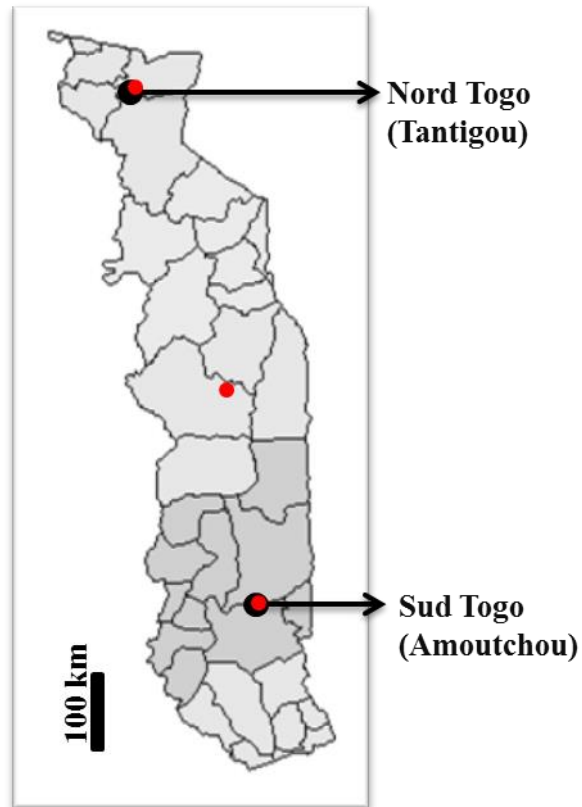


Figure 20. Carte du Togo. Les points représentent les points de piégeage des individus analysés pour les isotopes stables d'H, respectivement Tantigou dans le Nord et Amoutchou dans le Sud. Les points en rouge représentent les points utilisés pour la simulation dans le logiciel IOPC du site web WaterIsotopes.org.

II-2-3 Résultats

Les valeurs d'isotopes stables d'hydrogène varient de $[-109,54 ; -61,33]$ pour les 18 individus analysés. Dans le Nord (Tantigou) elles varient de $[-109,54 ; -80,54]$ et dans le Sud (Amoutchou) de $[-106,00 ; -61,33]$.

Les valeurs isotopiques varient entre les différents groupes mais on n'observe pas de différences significatives. Les individus piégés dans le Nord ont tendance à avoir des plus petites valeurs d'isotopes d'hydrogène par rapport aux valeurs d'isotopes stables de H pour les individus piégés dans le Sud (Fig. 21).

De même, entre le groupe d'individus piégés avant ou après la pluie dans le nord du pays, on n'observe pas de différences significatives (Fig. 21). Par contre, les groupes avant/après la saison des pluies dans le sud du pays sont bien discriminés (Fig. 22). Les individus piégés avant la saison des pluies présentent de plus fortes valeurs d'isotopes d'hydrogène. Les individus piégés au sud en saison sèche se différencient des autres groupes (Fig. 22). Les résultats des simulations réalisées à l'aide du logiciel OIPC ne montrent pas non plus de différences entre les valeurs isotopiques d'hydrogène des trois sites sélectionnés au Sud, Nord et Centre Togo (Tab. 4).

Tableau 4. Valeurs d'isotopes stables d'hydrogène obtenues du logiciel (de simulation de waterisotopes.org (OIPC=Online Isotopes in Precipitation Calculator) de WaterIsotopes.org.

	Togo	Bénin
Nord	-16±6	-18±5
Centre	-20±6	-20±5
Sud	-19±4	-23±5

Moyenne H (non-échangeable) (‰)

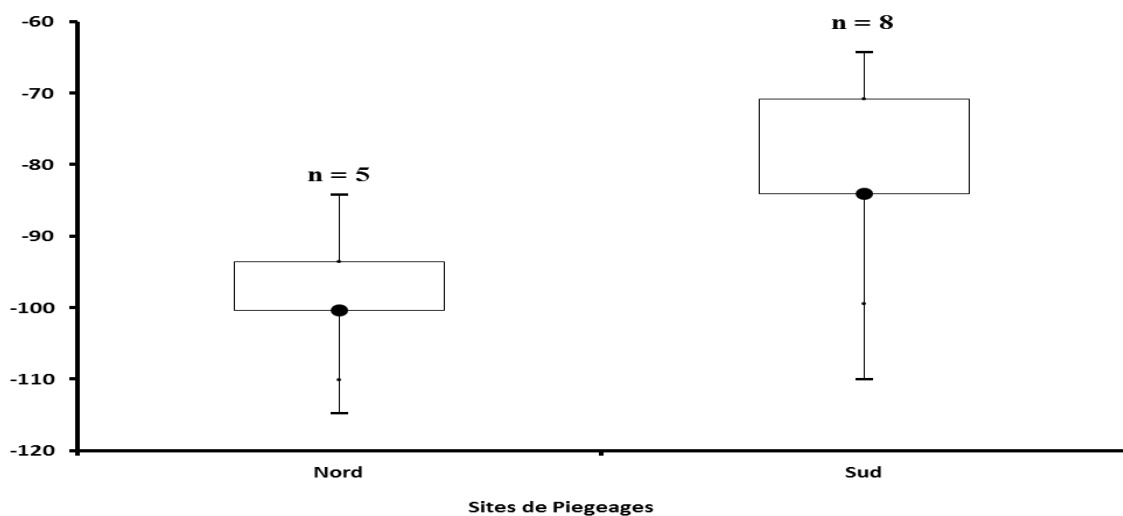


Figure 21. Valeurs des isotopes stables d'hydrogène (IsoAnalytical) en ‰ pour les individus *H. armigera* capturés au Nord et au Sud, avant la pluie. « n » correspond au nombre total d'individus analysés.

Moyenne H (non-échangeable) (‰)

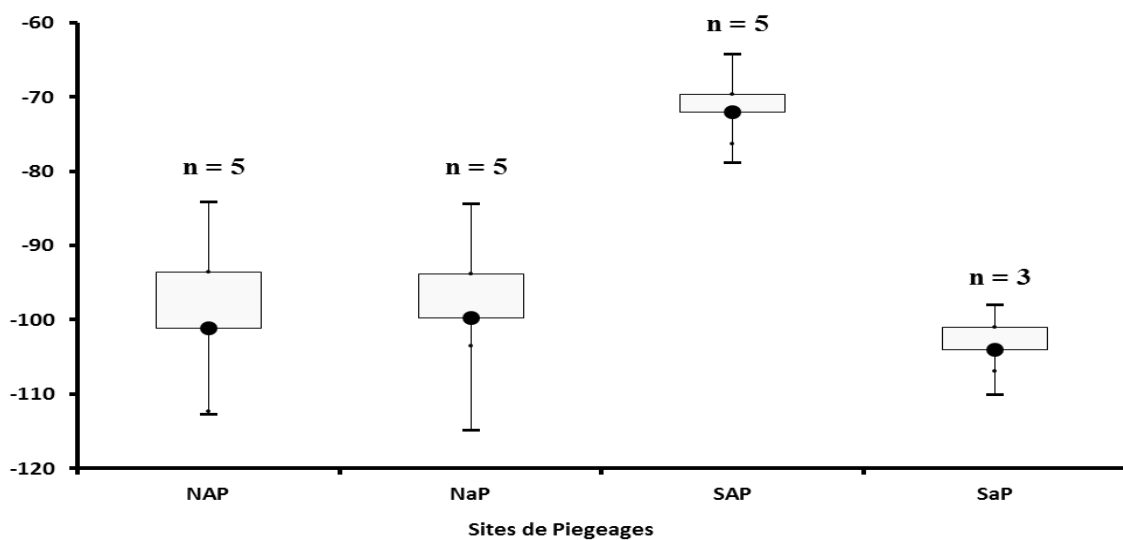


Figure 22. Résultats d'analyse d'isotopes stables d'hydrogène (IsoAnalytical). NAP = individus capturés au Nord avant la pluie, NaP = individus capturés au Nord après la pluie, SAP = individus capturés au Sud avant la pluie, SaP = individus capturés au Sud après la pluie. « n » correspond au nombre total d'individus analysés.

II-2-4 Discussion

Les résultats de cette mise au point méthodologique permettent de discriminer les individus piégés dans le sud durant les saisons sèches et des pluies. Ces résultats ne nous permettent de discriminer les individus du sud par rapport à ceux du nord. Nous n'avons pas pu discriminer les individus piégés dans le nord avant la pluie de ceux piégés après la pluie. Il est alors possible que les individus analysés soient de la même origine géographique. Néanmoins sans individus témoins, nous ne pouvons pas statuer clairement. Dans la suite de cette discussion nous apportons quelques éléments critiques envers cette mise au point méthodologique.

II-2-4-1 Les problèmes liés à la méthode ?

L'hydrogène échangeable : L'hydrogène échangeable représente la part d'hydrogène exogène (dans l'eau, les végétaux, l'air) à l'échantillon analysé. L'analyse des isotopes stables d'hydrogène bien que très intéressante présente aussi des biais, ce qui peut conduire à des résultats erronés. En effet, une proportion d' δH exogène peut contaminer la proportion d' δH de l'échantillon à analyser et fausser les résultats. Cette hydrogène échangeable peut atteindre près de 25% (Wassenaar et Hobson. 2000 ; Bowen et al. 2005b) de la quantité d' δH total des tissus comme la kératine, dans ce cas d'étude, les ailes de papillons ont été utilisées pour cette mise point. Il est important d'appliquer une mesure de correction comme le suggère Hobson et Wassenaar. 2008. Cette mesure de correction est basé sur des connaissances de la quantité d'hydrogène localement présente dans les végétaux, dans l'eau, l'air ou dans le sol. Dans notre étude, nous n'avons pas tenu compte de cet hydrogène échangeable d'où les biais possibles que nous avons pu observer.

La résolution liée à la latitude : L'analyse des isotopes stables d'hydrogène bien qu'étant un outil largement utilisé pour les études de migration des animaux (Wassenaar et Hobson. 1998 et 2003; Hobson et al. 1999) est un outil très sensible aux variations locales des valeurs d' δH (variation liée à la latitude). En effet, Meehan et al. 2001 ont montré qu'il fallait une résolution d'au moins $1,5^\circ$ de latitude pour discriminer l'origine géographique des populations d'oiseaux (épervier de Cooper). Pour les insectes, ce seuil de résolution n'est pas connu, il serait intéressant de mettre au point des expérimentations sur un large gradient latitudinal pour déterminer ce seuil de résolution et réduire les biais sur les résultats. Dans la littérature, une autre étude (Quin et al. 2011) a rencontré le même problème. En effet, pour l'analyse de la dynamique des populations du syrpe (*Episyrphus balteatus*) en Europe, cette

étude montre que le succès de l'utilisation des isotopes stables d'hydrogène pour déterminer l'origine géographique dépendait beaucoup du gradient latitudinal de la zone d'étude.

II-2-4-2 Taille de l'échantillon

La faible taille de l'échantillon (18 individus) pourrait masquer une variabilité plus importante entre les individus capturés au Nord et au Sud du Togo. Étant donné le coût de l'analyse de ces échantillons et la faible probabilité de montrer une différence significative au regard des estimations du logiciel OIPC du site web WaterIsotopes.org, nous n'avons pas jugé utile d'analyser d'autres individus.

II-2-4-3 Manque d'individus témoins

L'absence d'individus témoins ou de valeurs d' δH de l'eau provenant précisément des sites d'étude ou de sites de foyers d' *H. armigera* limite l'analyse des résultats. En effet, capturer des chenilles d'*H. armigera* dans les champs et les conserver jusqu'au stade adulte, pour ensuite analyser les valeurs d' δH aurait grandement amélioré les résultats. Ces individus auraient servi de référence pour l'analyse de l'origine géographique des *H. armigera* piégés dans les parcelles de cotonniers.

De plus, des réserves peuvent être émises quant à l'utilisation du logiciel IOPC pour simuler les valeurs δH en Afrique. Après vérification, le jeu de données concernant l'Afrique de l'Ouest ne comporte que 5 points (5 points GPS où les valeurs d' δH sont connus) et ces points sont tous situés entre les latitudes 10° et 12°N. Le manque de points de référence s'expliquerait par le manque de ressources pour l'analyse des isotopes stables d' δH en Afrique de l'Ouest. L'étude réalisée dans le cadre de la thèse est donc un des rares cas études à s'intéresser aux isotopes d'hydrogène en Afrique de l'Ouest.

II-2-5 Conclusion

Il ressort de la mise au point de l'analyse des isotopes stables d'Hydrogène requiert plusieurs analyses préliminaires. Notamment, il est important de vérifier si le gradient latitudinal est assez élevé pour constituer un seuil de résolution permettant de différencier les individus. Il est également nécessaire de réaliser des analyses préalables sur des individus témoins pour avoir des références. Nos résultats ont soulevé plusieurs autres questions sans répondre aux objectifs posés ce qui a conduit dans le cadre de cette thèse à privilégier d'autres méthodes.

II-3 Mise au point méthodologique: Analyse de la flore bactérienne pour déterminer l'origine géographique d'*Helicoverpa armigera*.

II-3-1 Introduction

La DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis) ou électrophorèse sur gel en gradient dénaturant est une méthode de séparation des molécules d'ADN de même taille mais de composition nucléotidique différente. C'est une méthode d'électrophorèse classique qui sépare les extraits d'ADN et d'ARN amplifiés au préalable par réaction PCR (Polymerase Chain Reaction) en présence d'un agent dénaturant (Urée, Formamide).

Cette méthode a été développée en 2008 par le laboratoire Qualisud/CIRAD Montpellier pour étudier la traçabilité des aliments (Le Nguyen et al. 2008a et b). Ces auteurs ont analysé la traçabilité des clémentines et celle des poissons par cette technique. Ils ont montré que les profils bactériens des poissons étaient spécifiques aux sites d'aquaculture (sites distants de 100km). Pour les clémentines, ils ont montré que les profils bactériens étaient corrélés à l'origine géographique des fruits. L'étude d'El Sheikha et al. 2009 a aussi illustré l'efficacité de la DGGE pour étudier la traçabilité des organismes. Ils ont analysé l'origine géographique des plantes telles que les physalis récoltés au Maroc en comparant la composition de la flore bactérienne présente dans les fruits des physalis par cette technique moléculaire. Chez plusieurs taxons, tels que les guêpes (Reeson et al. 2003), les blattes (Mrazek et al. 2008), les pucerons (Haynes et al. 2003), les criquets (Dillon et al. 2010) les carabes (Lehman et al. 2009), les moustiques (Rani et al. 2009 ; Zouache et al. 2011), la DGGE a été utilisée dans le but de déterminer leur origine géographique. Les résultats ont souvent apporté d'autres informations que l'origine géographique des taxons étudiés. Par exemple, dans l'étude de Lehman et al. (2009), l'origine géographique du carabe *Poecilus chalcites* n'a pas pu être déterminée mais une différence entre les individus élevés au laboratoire et les individus sauvages piégés dans les conditions naturelles a pu être mise en évidence. Zouache et al. (2011) ont montré une corrélation entre la flore bactérienne et l'habitat de deux espèces de moustiques (*Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*).

La technique de la DGGE a été très rarement appliquée sur les lépidoptères. Notre étude est la première à mettre au point cette méthode pour analyser l'origine géographique d'*Helicoverpa*

armigera. Les objectifs de cette mise au point méthodologique sont: i) Mettre au point la méthode DGGE sur un échantillon d'adultes d' *H. armigera* piégés dans les conditions naturelles. ii) Tester l'hypothèse selon laquelle la flore bactérienne hébergée par des individus *H. armigera* est corrélée à leur origine géographique et constitue ainsi un marqueur fiable de l'origine géographique des papillons. Ce travail a fait l'objet de deux stages : Un stage de trois semaines que j'ai réalisé dans les locaux de l'UMR QUALISUD du CIRAD/Montpellier avec l'encadrement de Didier Montet et d'un stage de 8 mois (stage de fin d'étude de Master 2) d'Arnaud C. Gouda, étudiant de l'Université d'Abomey Calavi (Bénin). AC. Gouda a réalisé son stage encadré par Philippe Menozzi dans les locaux du laboratoire de biotechnologie du Centre de recherche AfricaRice situé à Cotonou au Bénin (Gouda, 2012).

II-3-2 Matériels et Méthodes

II-3-2-1- Sites et protocole d'échantillonnage :

Sites de piégeage : Nous avons mis en place un dispositif de piégeage sur 5 sites disposés le long du gradient Sud – Nord-: Sékou – Okpara – Gogonou – Angaradébou et Gomparou (Fig. 23).

Échantillonnage : Sur chaque site, nous avons piégé dans des pièges à phéromone (Biosystems france, Z11+Z9 hexadecanol) (Nesbitt et al. 1980) des adultes d'*H. armigera*. Les individus piégés étaient collectés une fois par jour et les capsules de phéromones changées tous les 21 jours. Les adultes d'*H. armigera* piégés ont été conservés dans de l'alcool (95%) puis acheminés au laboratoire de Biotechnologie d'AfricaRice où ils sont conservés à -20°C jusqu'à analyse moléculaire.

Les individus témoins : Les témoins ont été obtenus après élevage au laboratoire (mise à nymphose) des chenilles capturées dans les sites de piégeage. Nous avons ainsi obtenu des témoins adultes dont les chenilles ont été capturées dans le Nord (Angaradébou), et près de Sékou dans le Sud du Bénin (Fig. 23).

II-3-2-2- Protocole DGGE

Le protocole pour analyser une quinzaine d'individus durait en moyenne cinq jours. Les principales étapes de ce protocole sont (Fig. 24) :

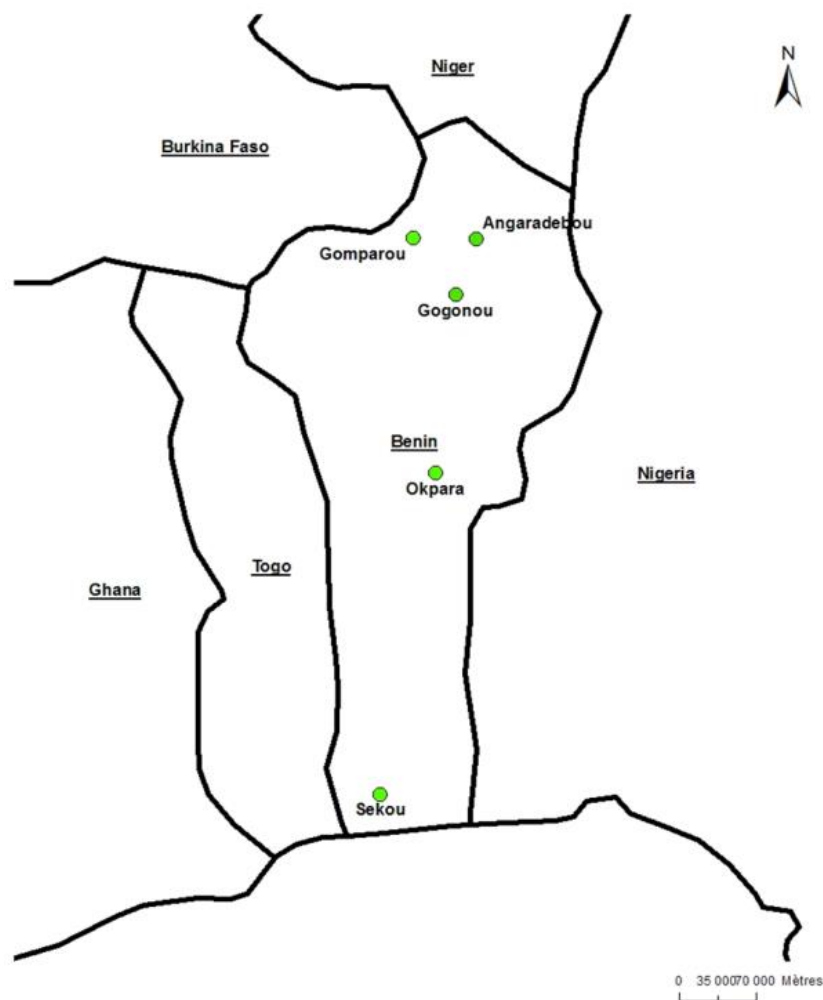


Figure 23. Les cinq sites de piégeage disposés le long du gradient Sud-Nord du Bénin.

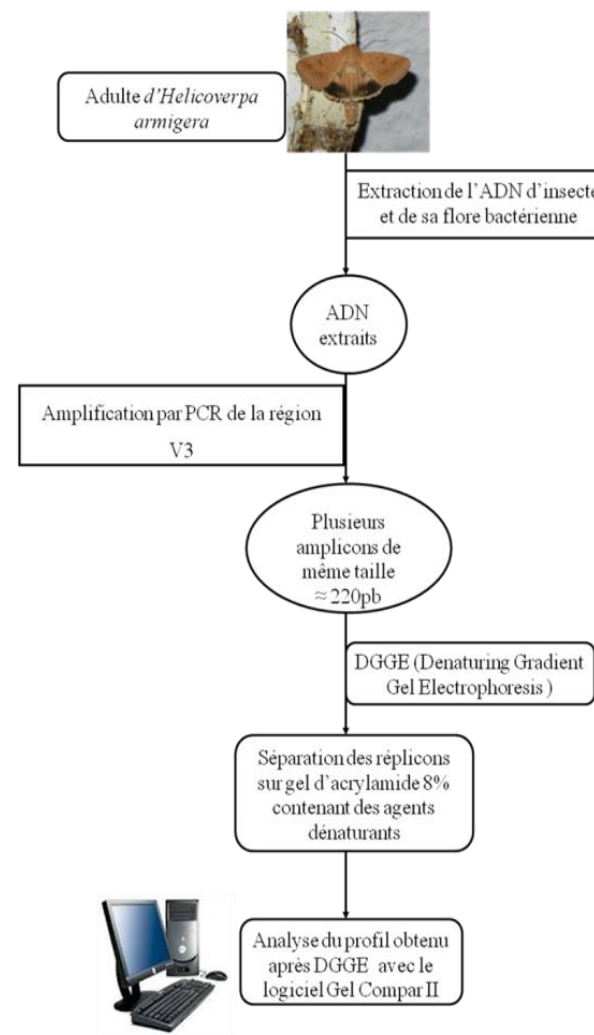


Figure 24. Protocole d'analyse de communautés bactériennes hébergées par *H. armigera*.

i) Extraction ADN *H. armigera* + bactéries hébergées ; ii) Amplification par PCR de la région variable V3 de l'ADN 16S ribosomal des communautés bactériennes ; iii) Visualisation du polymorphisme bactérien par DGGE et iv) Analyse des profils des bandes DGGE. Les témoins d'analyse DGGE utilisés sont les bactéries *Escherichia Coli* et *Lactobacillus plantarum*.

II-3-3 Résultats

Plusieurs essais ont été réalisés ; les résultats suivant sont ceux de deux individus pour chacun des cinq sites de piégeages et quatre témoins (2 du Sud, près de Sékou et 2 du Nord d'Angaradébou, Fig. 23). Les résultats présentés ci-dessous sont ceux de 14 individus. Au total, plus de 200 individus ont été analysés pour les multiples essais selon cette technique.

II-3-3-1 Amplification par PCR

L'ADN bactérien a été amplifié suivant les conditions PCR. Nous avons vérifié dans un premier temps les amplicons obtenus sur gel d'agarose 2% (Fig. 25).

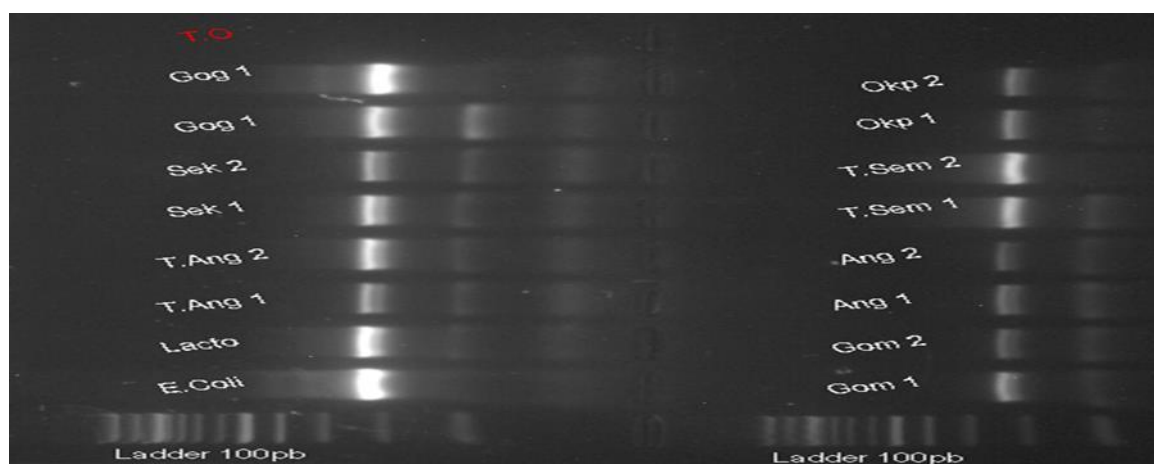


Figure 25. Photographie gel d'agarose 2% des fragments d'ADN amplifiés *Gog 1 et 2 ; Sek 1 et 2 ; Gom 1 et 2 ; Okp 1 et 2 ; Ang 1 et 2* représentent les deux individus piégés respectivement à Gogonou, Sékou, Gomparou, Okpara et Angaradébou (Fig. 23). *T.sem 1 et 2* représentent les témoins capturés près de Sékou dans le Sud, témoin Sud et *T. Ang 1 et 2* les témoins capturés à Angaradébou, témoins Nord. *T.O* représente le témoin négatif (eau pure).

L'analyse des bandes grâce à l'AlphaImager (appareil de lecture des gels) confirme que c'est la région V3 de l'ADN ribosomal bactérien qui a été amplifiée pour tous les échantillons.. En effet, la taille des amplicons obtenues est celle attendue pour cette région V3 de l'ADN bactérien (environ 220 paires de base) (Tab. 5).

Tableau 5. Taille de la région V3 de l'ADN ribosomal bactérien sur différents échantillons d'insectes

Site de piégeage	Date du relevé sur le terrain	Echantillons	Taille des bandes des produits PCR en (pb)
Gogonou	20-10-2010	Gog1	219
Gogonou	25-11-2010	Gog2	221
Gomparou	15-10-2010	Gom1	219
Gomparou	25-09-2010	Gom2	222
Sékou	02-12-2010	Sek1	211
Sékou	29-11-2010	Sek2	219
Angaradébou	10-11-2010	Ang1	222
Angaradébou	20-10-2010	Ang2	220
Okpara	13-10-2010	Okp1	220
Okpara	05-11-2010	Okp2	219
Témoin coton Angaradébou	08-10-2011	T. Ang1	220
Témoin coton Angaradébou	22-10-2011	T. Ang2	221
Témoin tomate Sémé Kpodji	17-12-2011	T.sèm 1	223
Témoin tomate Sémé Kpodji	12-11-2011	T.Sèm 2	221
<i>Escherichia Coli</i>		E.Coli	222
<i>Lactobacillus plantarum</i>		Lacto	221

II-3-3-2 Électrophorèse sur gel en gradient dénaturant

Forte Diversité de la flore bactérienne.

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient dénaturant montre que l'ensemble des échantillons analysés présente une forte diversité de bactéries (chaque bande correspond à une espèce de bactérie) (Fig. 26). On observe que la flore bactérienne varie selon les sites de collecte des témoins. La diversité bactérienne est aussi intrasite. En effet, pour deux individus piégés sur le même site, on observe des profils bactériens différents. *Escherichia Coli* est présent dans tous les individus analysés par contre le témoin *Lactobacillus plantarum* est présent que dans les individus témoins piégés dans le Nord du pays (Fig. 26).

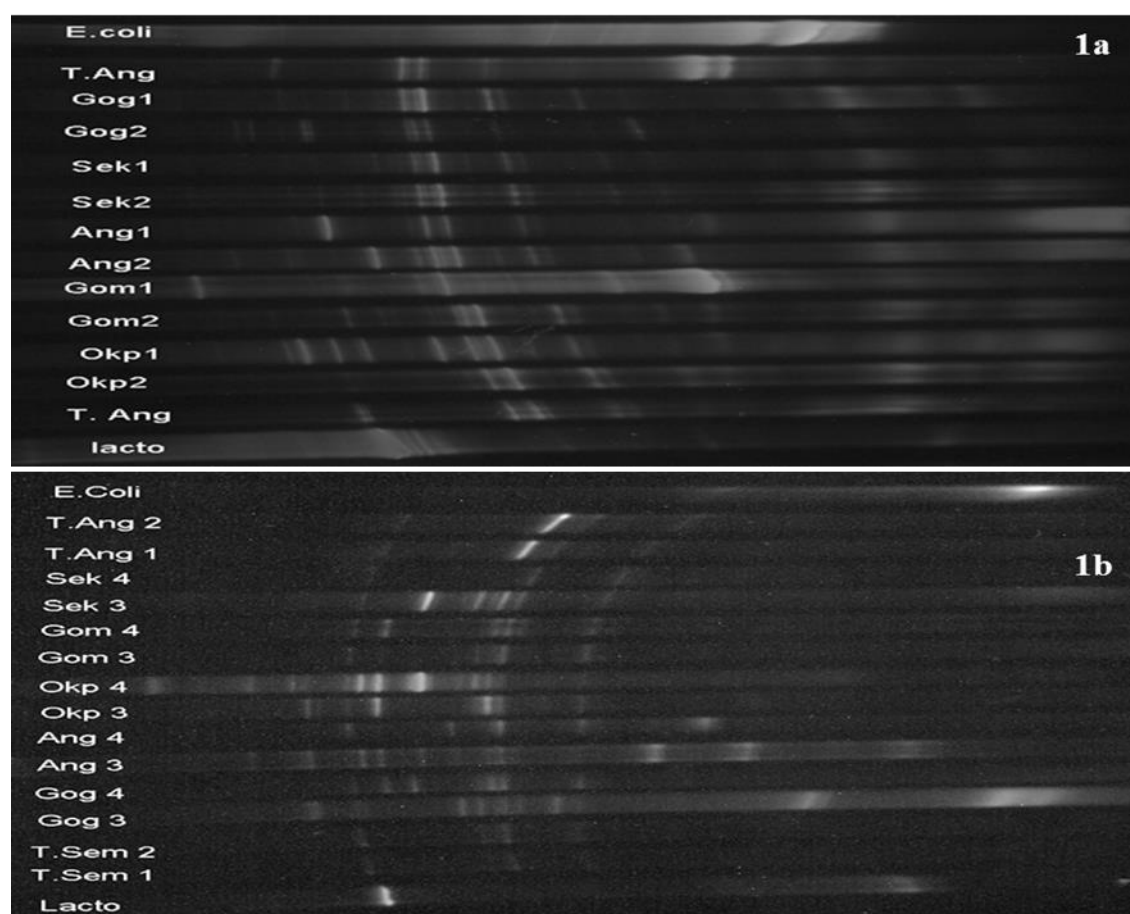


Figure 26. Photographie de la DGGE réalisée sur la flore bactérienne des individus d' *H. armigera* piégés dans le Nord, des témoins *E.coli* et *L. plantarum* (Lacto), et des témoins Nord (T.Ang) et Sud (T. Sem). Gog; Sek; Gom; Okp; Ang 1, 2, 3 et 4 représentent les individus piégés respectivement à Gogonou, Sekou, Gomparou, Okpara et Angaradébou (Fig. 22). T. Ang 1 et 2 ; T. Sem 1 et 2 les témoins capturés respectivement à Angaradébou et près de Sékou. Rappel : une bande correspond à une portion de l'ADN amplifié d'une bactérie.

Profil bactérien spécifique au site de piégeage

Pour quatre individus témoins Nord (capturés à Angaradébou), le profil bactérien est similaire (Fig. 27).

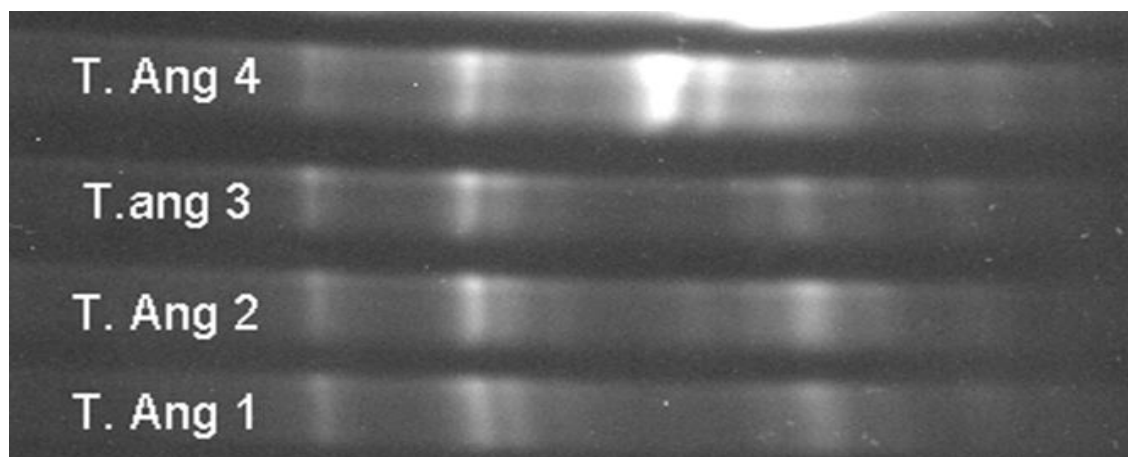


Figure 27. DGGE réalisée sur la flore bactérienne de 4 individus témoins *H. armigera* capturés dans le Nord (Angaradébou). *T. Ang 1, 2, 3 et 4* représentent les quatre individus témoins capturés à Angaradébou. Rappel : une bande correspond à une portion de l'ADN amplifié d'une bactérie.

II-3-4 Discussion

Nous avons observé une forte diversité de la flore bactérienne hébergée par les adultes *H. armigera* analysés. En effet, nous avons détecté sur les profils bactériens hébergés par les individus d' *H. armigera*, une vingtaine de bactéries différentes. Ces résultats rejoignent ceux de Priya et al. (2012) qui ont observé près de 27 colonies de bactéries dans l'intestin des échantillons d'*H. armigera*. Cette diversité pourrait être spécifique à l'ordre des lépidoptères ou à *H. armigera*, car pour d'autres insectes comme les pucerons, Haynes et al. (2003) ont trouvé seulement 4 espèces de bactéries avec la même méthode d'analyse (Electrophorèse par gel dénaturant). Pour cette mise au point méthodologique, nous avons observé que la diversité (polymorphisme) est à la fois intersites et intrasite. Pour un même individu, la flore bactérienne est très diversifiée, entre des individus piégés sur le même site (intrasite) ou entre individus de site différents (intersites) et elle est aussi diverse. Il n'est pas évident dans ce cas de regrouper les individus par origine géographique. En effet, des études montrent que la flore bactérienne hébergée par *H. armigera* peut être aussi corrélée au régime alimentaire (Hui Xiang et al. 2006 ; Priya et al. 2012). Xiang et al. (2006) ont montré que la flore bactérienne hébergée par des populations d'*H. armigera* élevées au laboratoire était moins polymorphes

que celle des individus piégés sur le terrain. De même, Priya et al. (2012) ont montré que la flore bactérienne hébergée par *H. armigera* était corrélée à celle des feuilles qui ont servi de source de nourriture. Ils concluent donc que les profils bactériens renseigneraient sur l'origine trophique plutôt que sur l'origine géographique. Chez d'autres taxons (fourmis, blattes, poissons, et reptiles), Kopecny et al (2010) ont obtenu les mêmes résultats à savoir que le régime alimentaire influencerait la composition de la flore bactérienne interne des populations de blattes. Ces résultats sont infirmés par ceux de Haynes et al (2003) qui montrent que la flore bactérienne des populations de pucerons de laboratoire n'est pas différente de celles des populations piégés sur le terrain sachant que les deux populations avaient des régimes alimentaires différents. Par contre, chez un autre taxon (les guêpes) aucune corrélation n'est observée. En effet, Reeson et al. (2003) montrent que le profil bactérien des guêpes n'est corrélé ni à la saison climatique, ni à l'âge, ni à la taille des nids et ni à l'origine géographique des guêpes. Ils montrent cependant que la diversité bactérienne inter-nids est plus élevée que lorsqu'on reste dans le même nid (intra-nid). Une question serait de savoir si le profil bactérien est corrélé au nid. Le nid peut-il être considéré comme un habitat ? Les études de Zouache et al. (2011) sur des populations de moustiques (*Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*) montrent que la flore bactérienne hébergée par ces derniers est corrélée à leur habitat. Ces mêmes études montrent que la diversité de la flore bactérienne peut aussi varier en fonction du sexe et du régime alimentaire des individus analysés.

Ainsi, il ressort de la littérature que la flore bactérienne peut à la fois être corrélée à l'origine géographique, à l'origine trophique, à l'âge, au sexe et l'habitat de l'individu analysé. Les études () qui ont réalisé sur *H. armigera* des électrophorèses du type DGGE sur les amplicons d'ADN bactérien par Xiang et al. (2006); et Priya et al. (2012) font ressortir que la flore bactérienne pourrait être aussi fonction du régime alimentaire. Ces études présentent néanmoins un biais : il s'agissait dans les deux cas d'une comparaison entre des populations obtenues du laboratoire versus celles piégés dans les conditions naturelles.. L'origine trophique dans ce cas peut être aussi liée à l'origine géographique. En effet, concernant la mise au point méthodologique des travaux menés au Bénin, il ressort que les individus témoins capturés sur le même site (Angaradébou) présentent le même profil bactérien. Les résultats de cette mise au point sont encourageants mais néanmoins des questions se posent. La similitude observée entre les témoins-nord pourrait-elle être une signature de l'origine géographique ? Si oui, quel est le rayon (distance) de pertinence de cette signature ? Existe-t-il une distance seuil pour ce signal géographique ? La flore bactérienne des individus d'*H.*

armigera est-elle fonction du sexe et de l'âge comme l'ont montré Dillon et al (2010) chez le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*) ? En plus de toutes ces questions, se pose celle de la taille de l'échantillon analysé. Les résultats seront-ils les mêmes pour un grand échantillon ?

II-3-5 Conclusion

Bien que fastidieuse, la méthode a été mise au point. Comme toutes les méthodes de biologie moléculaire, elle est délicate, longue, composée de plusieurs paramètres à prendre en considération. Elle peut être réalisée à présent en routine dans le laboratoire de biotechnologie d'AfricaRice à Cotonou/Bénin. Nous avons vu que les profils bactériens des individus témoins du même site étaient similaires. Cependant, nous avons observé une forte diversité inter et intrasite. Les individus piégés sur le même site présentent des profils différents. Et des individus piégés sur des sites différents présentent aussi des profils bactériens différents. Les questions qui se posent sont donc de savoir, si cette différence de profil exprime une signature géographique différente. Dans l'affirmative, quelle est la distance seuil pour un groupe d'origine géographique commune ? Cette différence observée traduit-elle un effet de l'origine trophique comme le montre d'autres études?

II-4 Suivi temporel de l'abondance et origine trophique d'*Helicoverpa armigera* le long d'un gradient latitudinal au Bénin

II-4-1 Introduction

La noctuelle polyphage *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) est présente partout dans le monde (Fitt 1989, Czapak et al. 2013). *H. armigera* est considéré comme l'un des ravageurs les plus dangereux de plusieurs cultures (Sharma 1985; Brevault et al. 2008; Fefelova et Frolov 2008; Nasser et al. 2009; Walker et al. 2010). Il présente de nombreuses caractéristiques qui renforcent ce statut. *H. armigera* est caractérisé par une grande mobilité; Feng et al. (2009), a montré en effet que des populations de *H. armigera* pouvaient voler pendant 8 à 11h avec une vitesse jusqu'à 40 km/h. Les femelles d'*H. armigera* peuvent pondre plusieurs centaines d'œufs (Song et al. 2007). En plus des caractéristiques citées ci-dessus (polyphagie, grande mobilité, forte fécondité), *H. armigera* peut également réaliser une diapause facultative ou une migration saisonnière en fonction des conditions naturelles. En effet, les populations d'*H. armigera* peuvent faire une longue diapause (population locale) ou migrer vers des régions où les conditions sont plus favorables (meilleures conditions de température, présence de plantes hôtes) (Fitt, 1989; Nibouche 1994).

Les populations locales résultent des populations qui ont effectué leur période de diapause ou de vie ralentie sur place et n'ont pas migré. L'abondance de ces populations locales est alors influencée par la mosaïque paysagère locale. Lu et Baker. (2013), ont montré que les femelles pondaient des œufs dans un environnement propice, caractérisé par l'abondance de plantes hôtes attractives. Ainsi, un environnement paysager constitué de plantes hôtes dans un stade phénologique attractif serait le plus approprié pour les pontes. De ce fait, l'effet du paysage sur les populations d'insectes ravageurs est d'un grand intérêt pour leur contrôle biologique (Tscharntke, 2000; Bianchi et al. 2006; Zaller et al. 2008; Chaplin-Kramer et al. 2011). Les résultats sont cependant controversés : une tendance majeure est néanmoins observée : la végétation naturelle fournit un abri pour les ennemis naturels, ce qui par rétrocontrôle favorise la régulation naturelle des ravageurs.

Dans cette partie, l'objectif était principal d'analyser la distribution spatiale et temporelle des adultes d'*H. armigera* piégées le long du Bénin. Nous voulions indirectement étudier la migration. Dans le Nord Bénin, au début de la saison des pluies (mi-mai), *H. armigera* infeste les différentes plantes hôtes (*Cleome viscosa*, tomate, maïs, coton) en fonction de leur période d'attractivité (Fig. 13). Les individus qui infestent massivement les parcelles de cotonnier pendant le pic d'infestation en septembre proviennent soit de populations locales soit de populations de migrants venant du sud du pays transportées par le vent.

Dans l'éventualité où il y aurait une migration du Sud au Nord du Bénin, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle il existe un décalage temporel entre les pics d'infestation entre le sud et le nord du Bénin, celui du Sud arrivant plus tôt que celui du Nord. En effet, la forme géographique allongée du Bénin, apporte une variation climatique entre le sud et le nord du Bénin. Par conséquent, le calendrier cultural ainsi que le couvert végétal varient en fonction du climat et donc en fonction des zones géographique (sud ou nord). En fonction des saisons, il existe deux vents antagonistes (harmattan et mousson) qui peuvent favoriser les déplacements d'*H. armigera*. En s'appuyant sur ces connaissances de la zone géographiques, nous supposons que les pics d'infestation d'*H. armigera* apparaîtraient décalés graduellement en fonction du climat du sud vers le nord du pays. Nous avons également testé l'hypothèse selon laquelle la composition du paysage serait négativement corrélée à l'abondance ou l'origine trophique des individus d' *H. armigera*. Ceci en supposant que les populations sont migrantes et donc ne seraient pas influencées par le couvert végétal local. Pour tester ces hypothèses, nous avons utilisé des données issues de piégeages dans des pièges à phéromone placés selon un gradient sud-nord.

II-4-2 Matériel et Méthode

II-4-2-1 Le site d'étude

L'étude a été réalisée au Bénin, pendant deux années (2010 et 2011) dans des parcelles de cotonnier situées sur cinq sites expérimentaux. Les cinq sites expérimentaux sont situés dans les localités de Sékou (6°37'/ 2°13'), Okpara (-9°20'/2°41'), Gogonou (10°51'/2°50'), Angaradébou (11°19'/3°01') et Gomparou (11°20'/2°29') suivant le gradient du Sud vers le Nord du Bénin (Fig. 27). Entre les sites Sékou, Okpara et ceux du nord (Gogonou, Angaradébou et Gomparou), il existe un gradient à la fois climatique et latitudinal qui déterminent le couvert végétal en général et la production cotonnière en particulier. Le climat de Sékou est équatorial et océanique du fait de la proximité de l'océan atlantique ; la proportion de cotonnier dans le couvert végétal est faible, et le maïs est cultivé majoritairement (Tab. 6). Le climat d'Okpara est plutôt intermédiaire entre le climat équatorial du Sud et le climat tropical sec du Nord. Les sites du nord du pays (Gomparou, Gogonou et Angaradébou) présentent un climat propice pour le développement du cotonnier ; le cotonnier représente plus de 50% du couvert végétal. Les parcelles de cotonnier de ces sites sont les plus infestées par *H. armigera*.

II-4-2-2 Échantillonnage, Analyse du paysage et Analyse origine trophique.

- Échantillonnage

Sur chaque site, d'août 2010 à décembre 2011, nous avons posé un piège à phéromone (Biosystems france, Z11+Z9 hexadecanol) (Nesbitt et al. 1980). Les pièges étaient posés dans les parcelles expérimentales de cotonnier. Les individus piégés étaient comptés une fois par jour et les capsules de phéromones changées tous les 21 jours.

- Analyse du paysage

Nous avons également relevé l'occupation du sol dans un rayon de 500 m autour du point de piégeage à l'aide d'un appareil GPS (Garmin, 12 CHANNEL). Après les relevés sur le terrain, nous avons digitalisé l'occupation du sol à l'aide logiciel de SIG ArcMap 10 ESRI-France afin d'extraire les proportions en surface des différents type de couvert végétal.

- Détermination de l'origine trophique:

Nous avons analysé la composition en isotopes stables de carbone ($^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$) sur les ailes de 123 individus piégés sur les différents sites. L'analyse permet de discriminer les individus ayant passé leur vie larvaire sur des plantes en C4 (comme le maïs et sorgho) de ceux qui ont passé leur vie larvaire sur les plantes en C3 (cotonnier et une adventice *Cleome viscosa*). Nous avons réalisé cette analyse dans le but de confirmer l'origine locale des individus si l'hypothèse de migration n'était pas vérifiée.

II-4-2-3 Analyses des données

Nous avons déterminé l'hétérogénéité de la composition du paysage pour chaque site d'étude à l'aide de l'indice de Shannon $H = -\sum p_i \ln p_i$; où p_i représente la proportion de chaque type végétal présent dans les différents sites. Le test non-paramétrique de Kruskal – Wallis nous a permis de tester la différence d'abondance des individus piégés entre les différents sites d'étude. Les résultats des analyses d'isotopes stables de carbone ont permis de discriminer les individus qui avaient passé leur vie larvaire sur les plantes hôtes de type photosynthétique C3 (cotonnier et *Cleome viscosa*) de ceux qui avaient passés leur vie larvaire sur des plantes hôtes de type photosynthétique C4 (maïs et sorgho). Pour la suite de cette étude, les premiers seront nommés individus-C3 et les seconds individus-C4. Nous avons ensuite calculé la proportion d'individus-C3.

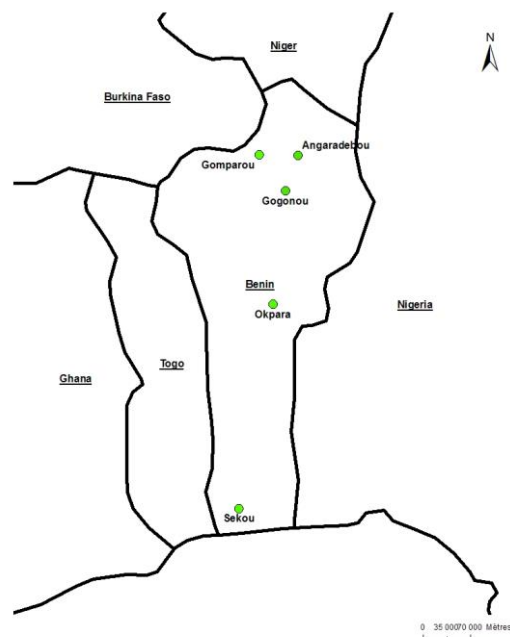
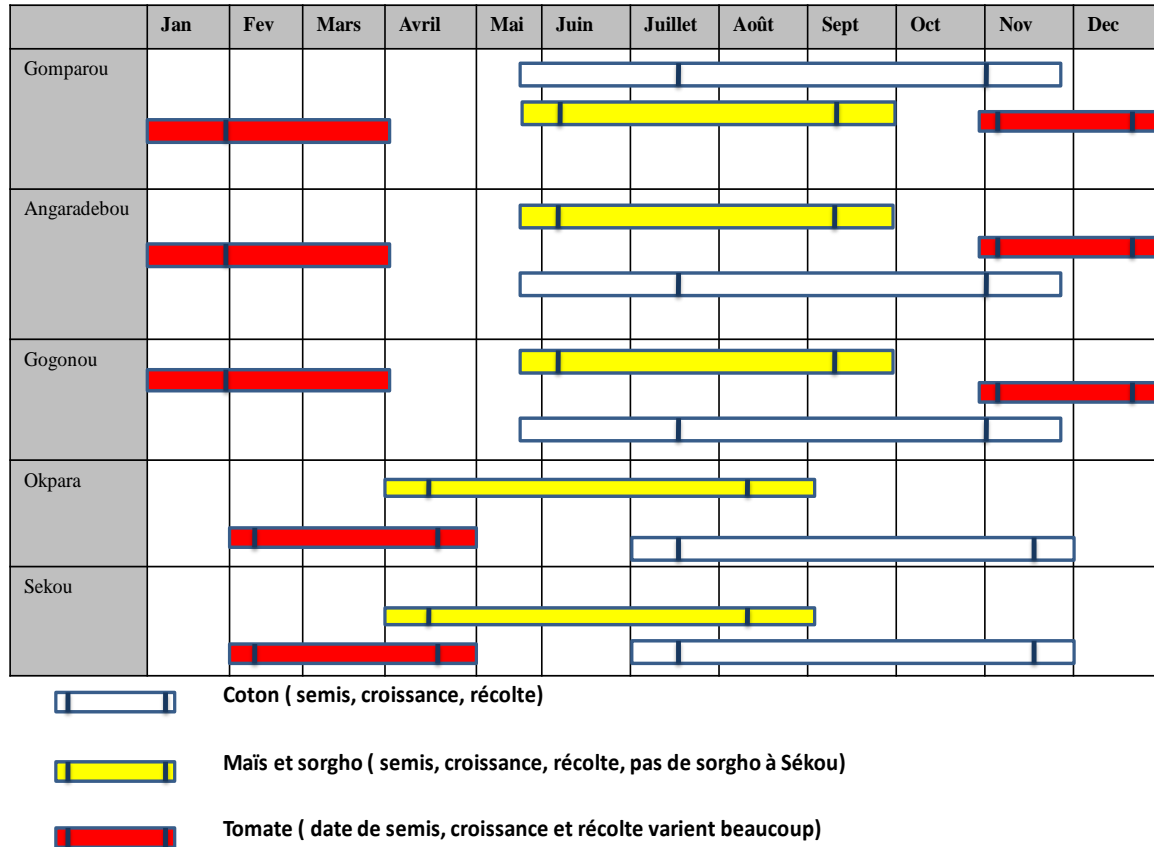


Figure 28. Sites de piégeage disposés le long du gradient Sud-Nord du Bénin

Tableau 6. Calendrier cultural et cultures prédominantes sur chaque site d'étude



II-4-3 Résultats

1876 adultes d'*H. armigera* ont été piégés au total pendant les deux années (2010 et 2011) dont 1752 en 2010 et seulement 124 en 2011. On observe une densité d'individus piégés par nombre de relevés dans les pièges de 20,86 (1752/124) en 2010 et 0,99 (124/125) en 2011. Cette différence observée sur le terrain est dû à la quasi-absence d'*H. armigera* dans les pièges dans le site du Sud du pays (Sékou) et ceci particulièrement pour l'année 2011 où l'infestation a été moins observée dans les parcelles en général. Nous nous sommes focalisé sur les résultats des données de l'année 2010.

II-4-3-1 Piégeage des adultes

- Dynamique temporelle : une même date de pic d'infestation pour les cinq sites.

Le site de Gomparou dans le nord du pays apparaît plus infesté d'*H. armigera* par rapport aux autres sites (Fig. 29). Le pic d'infestation est observé le 02 octobre 2010 pour les cinq sites d'étude. Le site de Gomparou dans le nord du pays présente un deuxième pic le 10 octobre (180 individus piégés) (Fig. 29).

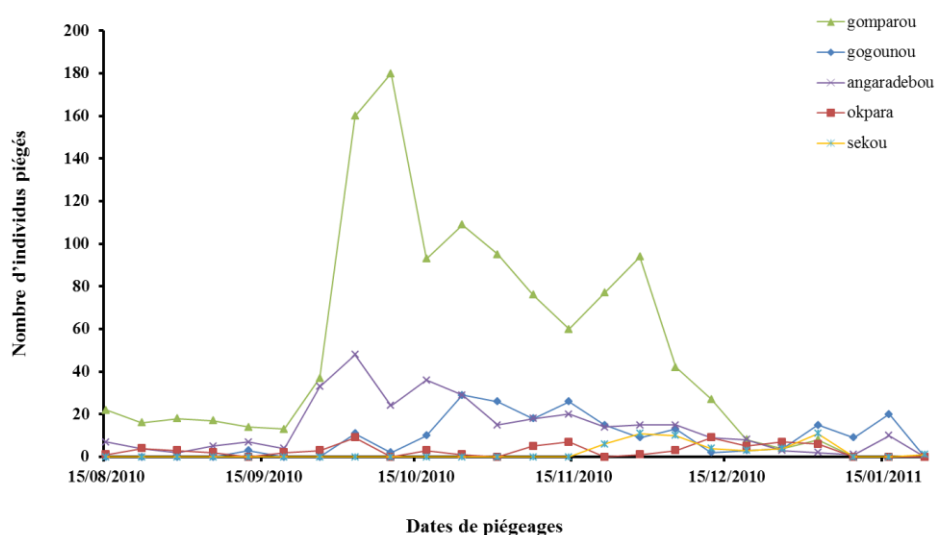


Figure 29. Dynamique temporelle des individus piégés d'août 2010 à janvier 2011 (nb total hebdomadaire d'individus piégés). Du Nord vers le Sud: Gomparou - Gogounou – Angaradebou – Okpara - Sekou.

- Les sites de la zone 3 dans le Nord sont les plus infestés.

Le site de Sékou est le moins infesté (Fig. 30). Okpara, site au centre du pays présente une moyenne d'infestation supérieure à celle du site de Sekou (dans le Sud) mais l'infestation reste inférieure à celle observée dans les sites du Nord (Fig. 30).

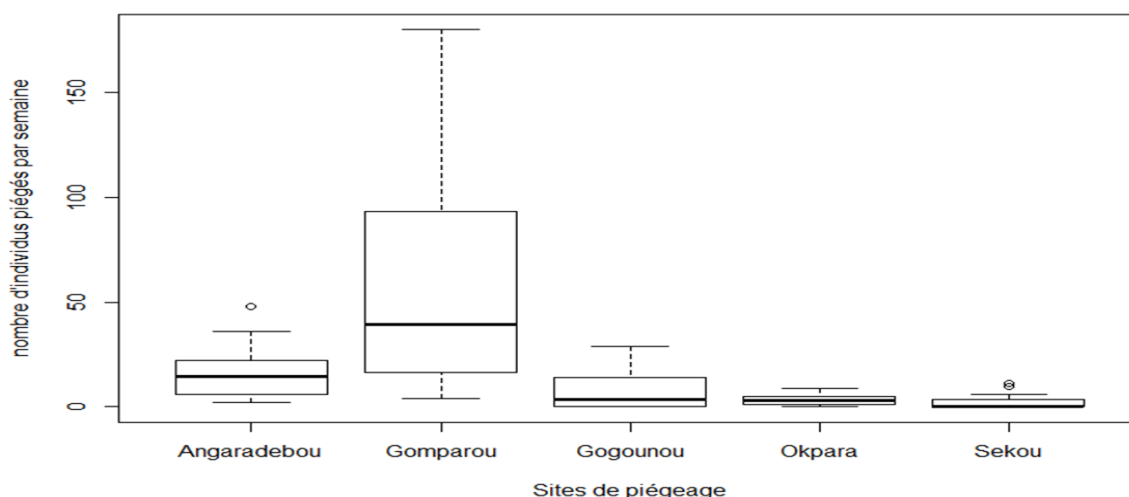


Figure 30. Abondance relative entre les sites de piégeage.

II-4-3-2 Composition du paysage.

Le relevé d'occupation du sol montre des proportions constantes en plantes hôtes d' *H. armigera* entre les deux années (2010 et 2011) pour un même site (Fig. 31). Entre les sites, les proportions des plantes hôtes varient. Les sites du nord (Angaradébou, Gogonou et Gomparou) présentent des proportions de cotonnier plus élevées. Dans le sud du pays, à Sékou le maïs est la plante hôte majoritaire. Le sorgho est faiblement représenté entre les différents sites et presque absent sur le site de Sékou.

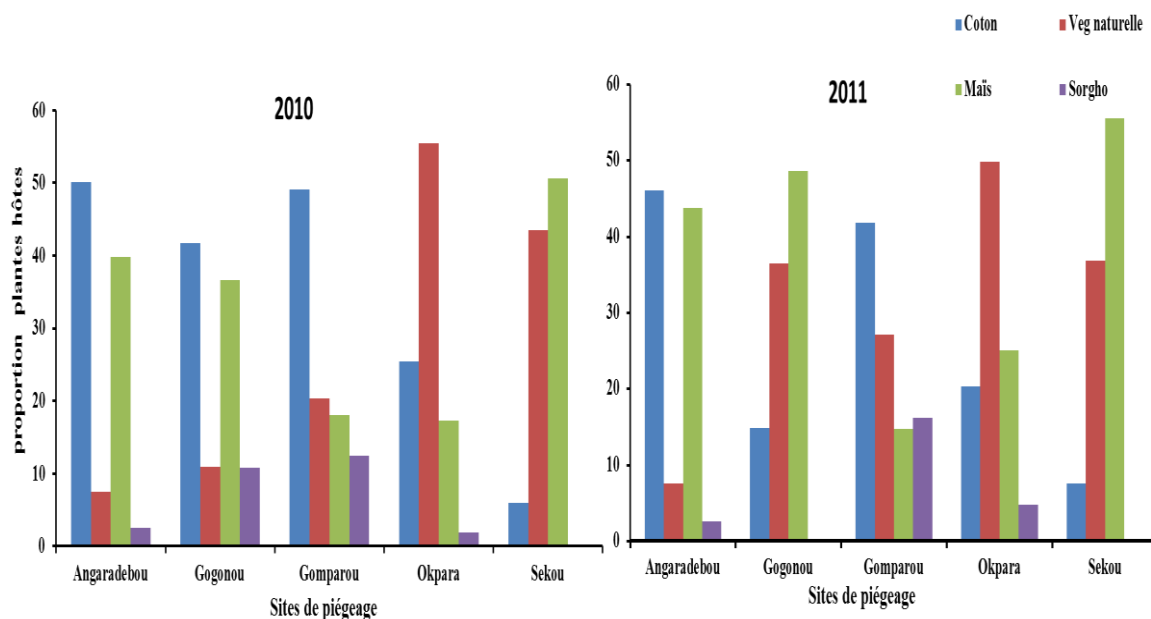


Figure 31. Relevés d'occupation du sol sur les différents sites de piégeages (2010 et 2011).

L'hétérogénéité du paysage pour les différents sites ne varie pas entre les deux années, les sites sont caractérisés par des plantes cultivées typiques de la région d'étude. Sékou dans le Sud présente pour les deux années l'indice de diversité le plus fort (Fig. 32).

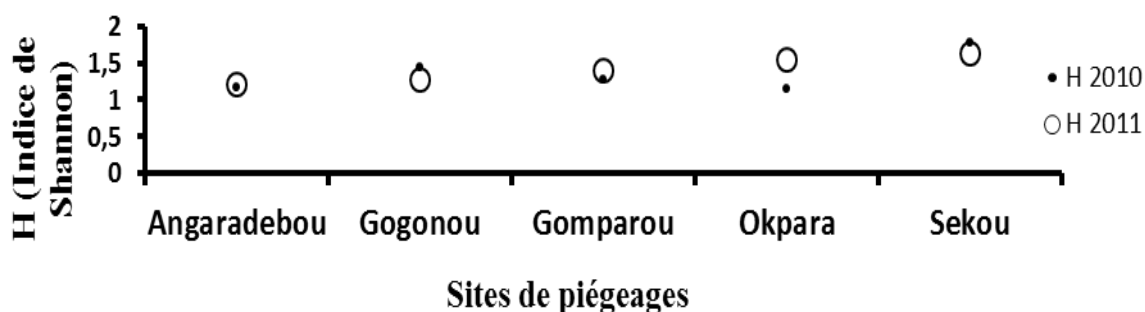


Figure 32. Indice de diversité de Shannon entre les sites de piégeage.

II-4-3-3 Résultats analyses isotopes de carbone : origine trophique

Les résultats d'analyses des isotopes stables de carbone montrent que pour tous les sites, il y'a toujours plus d'individus d'origine trophique C3 que d'individus C4 (Fig. 32). Les ratios nombre de C4/ nombre de C3 sont par conséquent très faibles et varient entre 0 et 0,16. Le site de Gomparou dans le Nord présente le plus fort ratio (0.16) et le site d'Okpara dans le centre présente le plus faible ratio (0). (Fig. 33)

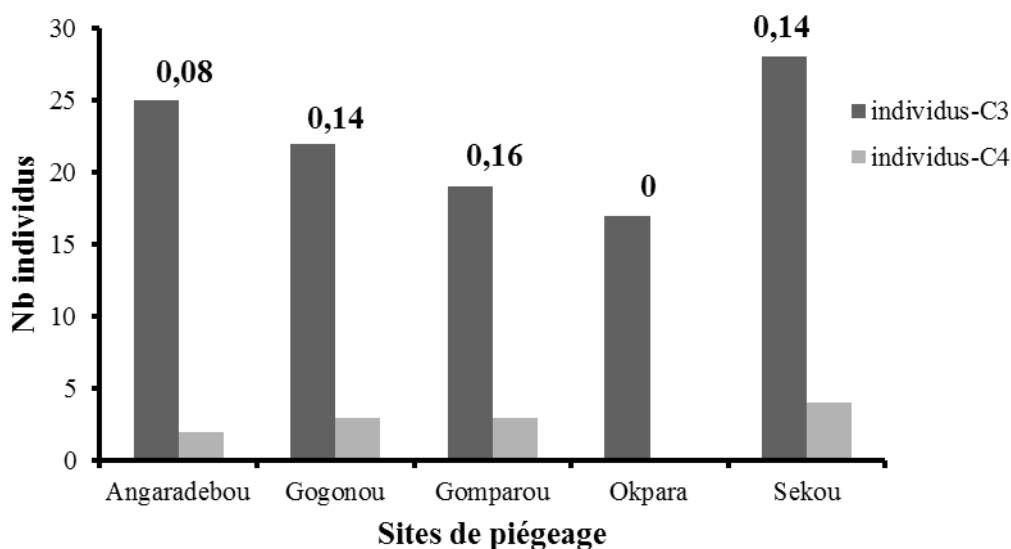


Figure 33. Synthèse des résultats d'analyse des isotopes stables de carbone. Au-dessus de l'histogramme, le ratio individus C4/ individus C3.

II-4-4 Discussion

- Une Forte abondance d' *Helicoverpa armigera* dans le nord du pays

Le nord du pays semble plus infesté que les autres sites (Okpara et Sékou dans le Sud du pays). En effet, près de 95% d'individus piégés pendant la campagne de l'année 2010 proviennent des sites situés dans le nord du pays. Deux raisons principales expliqueraient ces résultats : i/ Les températures élevées dans le nord du Bénin qui accélèreraient le cycle biologique d'*H. armigera*. En effet, Nibouche (1994) ont montré que la température était un paramètre important qui déclenchait l'émergence des adultes d'*H. armigera*. ii/ la densité de plantes hôtes et principalement de coton dans le Nord du pays favoriseraient l'abondance d'*H. armigera*. En effet des études sur l'abondance des larves dans les parcelles de cotonnier (partie III-2). ont montré que la proportion de cotonnier dans un paysage de 500m de rayon favorisait la présence des larves dans la parcelle. Ce résultat rejoint l'hypothèse de concentration de ressource qui stipule que plus il y'aurait de ressources plus il y aurait de ravageurs.

- Existe-t-il un déplacement du pic d'abondance du Sud vers le Nord ?

Nous avons testé l'hypothèse selon laquelle le pic d'infestation se déplace du Sud vers le Nord du Bénin au début de la saison des pluies dans le Nord puis en vers le Sud à la fin de

la saison des pluies ; Cette étude montre qu'il n'y a pas de décalage entre les pics d'abondance des adultes piégés dans les différents sites. Les pics d'abondance arrivent tous presque à la même date, autour du 02 octobre pour l'année 2010. Nous n'avons pas observé de décalage des dates de pic entre les sites, ni une avancée progressive du Sud vers le Nord. Feng et al(2009) ont étudié la migration d'*H. armigera* en Chine. Ils ont montré que les populations d'*H. armigera* migraient vers le Nord transporté par le vent durant le printemps et l'été, et retournaient vers le Sud en automne. Au Bénin, le FIT (Front InterTropical) favorise l'apparition de deux vents principaux : la Mousson du Sud vers le Nord en début de saison des pluies (mai-juin) et l'Harmattan du Nord vers le Sud dès la fin des pluies. Les résultats de notre étude ne semblent pas confirmer cette hypothèse. On observe plutôt une tendance de turnover local où les populations passeraient tout leur cycle biologique localement et formeraient une métapopulation locale. De plus, les résultats des études de Prudent et al. (Données personnelles, 2003) réalisées sur 10 années entre 1992 et 2002 ne montrent pas de décalage de pic d'abondance entre le sud et le Nord du Bénin (Fig. 34). Le suivi de 22 pièges à phéromones le long du gradient latitudinal du Bénin entre le nord et le sud, durant les 10 années d'études a permis d'observer que le nord du pays était toujours plus infesté par *H. armigera* comparé comparativement au Sud.

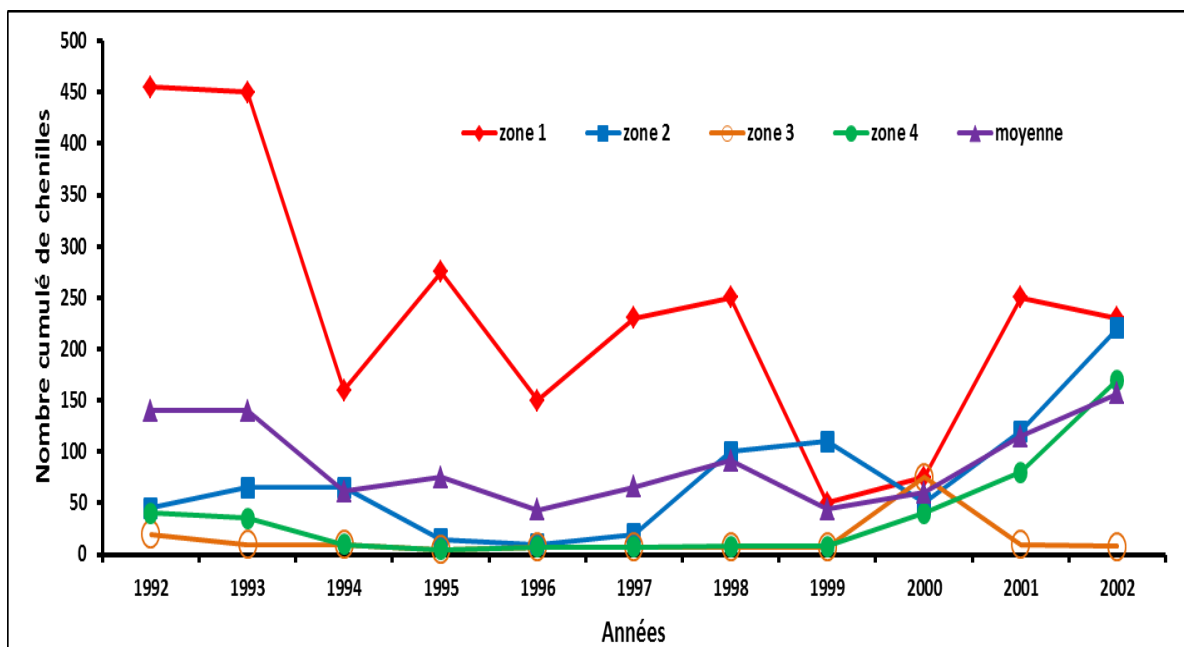


Figure 34. Abondance cumulée des larves d'*H. armigera* le long du gradient latitudinal du Bénin de 1992 à 2002. Les sites étudiés sont divisés en 4 zones d'études : Angaradebou, Gomparou et Gogonou forment la zone 1; Okpara dans la zone 2 et Sekou dans la zone 4 (extrait de Prudent et al. 2003, Données personnelles).

-Relation entre Diversité / Composition du paysage entre les sites / Origine trophique des adultes piégés ?

Au sud du Bénin, le site de Sékou présente une plus grande variabilité de plante hôtes. Le site présente par conséquent un plus fort indice de diversité. Les conditions climatiques de type bimodal dans le sud du pays permettent une grande diversité de plantes cultivées. Les parcelles sont alors cultivées au moins 2 fois sur une même saison des pluies. De plus, la saison des pluies dans le sud est plus longue (6-8 mois) que dans le Nord du pays (4-5mois).

La composition du paysage varie entre les sites. L'hétérogénéité du paysage observée n'est pas graduelle du Sud vers le Nord, elle dépend de chaque site étudié. Le grain de paysage est similaire entre les sites, les différences observées se situent au niveau des proportions. En effet le maïs est plus représenté en proportion de surface que dans le Nord. De même, le cotonnier est plus représenté en proportion de surface dans le Nord que dans le Sud ; ceci pourrait aussi expliquer les fortes infestations d'*H. armigera* observées dans le nord du pays.

L'origine trophique des adultes piégés ne varie pas entre les différents sites d'études ; ceci malgré l'hétérogénéité observé tant au niveau de la composition que de la diversité du paysage entre les sites étudiés. Les individus proviennent essentiellement de plantes en C3.

II-4-5 Conclusion

Dans le Nord, la surface cultivée en cotonnier est plus importante que dans le Sud. Nous avons observé, après calcul de l'indice de diversité de Shannon que le Sud du pays (Sékou) présentait plus de diversité que les autres sites étudiés. L'hypothèse posée selon laquelle il pourrait avoir un décalage dans le temps des pics d'infestation du Sud vers le Nord n'a pas été vérifié. Le pic apparaît au même moment entre les différents sites d'étude dans tout le pays. Des études précédentes corroborent ces résultats (Prudent et al. 2003, données personnelles). Il se pourrait que les populations soient plus locales que migrantes.

Il est toutefois important d'émettre des réserves sur les résultats de cette étude. En effet, plusieurs biais apparaissent: i/ La méthode de piégeage utilisée n'est pas la plus optimale. En effet, les phéromones ne captent que les individus mâles. Cette population pourrait ne pas refléter celle de la population entière et biaiser ainsi les résultats, le comportement des mâles

n'étant pas toujours similaire à celui des femelles. Il aurait été judicieux d'ajouter à ces piégeages par phéromones des piégeages lumineux qui auraient mieux reflétés le comportement de la population entière. Nous avons corrigé ce biais en réalisant des piégeages lumineux pendant les années 2011 et 2012. Les résultats sont présentés dans la partie IV-4 de la thèse. ii/ Le faible jeu de données pour certains sites comme dans le site du sud à Sékou apporte également des biais dans l'analyse de ces résultats. Le nombre d'individus dont les ailes ont servi pour l'analyse des isotopes stables de carbone était donc différent entre les sites. Il aurait été judicieux de sélectionner plusieurs paysages pour chaque ville et donc plusieurs sites de piégeages et d'analyser un nombre constant d'individus par site. iii/ Seules les données de l'année 2010 ont pu être exploitées, ce qui complique l'analyse des résultats. Il aurait été judicieux de multiplier les répétitions par site si l'étude ne pouvait pas être réalisée sur plusieurs années.

II-5 Conclusion de la partie II

L'étude des déplacements des insectes ravageurs est d'un grand intérêt aujourd'hui pour améliorer les programmes de lutte contre les ravageurs. Dingle et Drake (2007) montrent que les ravageurs se déplacent à la recherche des ressources, des sites de reproduction ou d'abris. Il est alors nécessaire de comprendre ces déplacements pour renforcer les stratégies de lutte contre les ravageurs. Dans cette deuxième partie de ma thèse, après avoir présenté une revue de littérature sur les outils utilisés pour déterminer l'origine géographique (II-1), nous avons présenté les résultats des mises au point méthodologiques de deux outils (II-2 et II-3) et finalement une étude sur le suivi de l'abondance et des déplacements d'*H. armigera* selon un gradient latitudinal Bénin (II-4). *H. armigera* est un voilier occasionnel : il peut migrer sur des milliers de kilomètres (Feng et al. 2009) mais il peut également faire de petits déplacements entre parcelles voisines. Les marqueurs moléculaires sont utilisés dans plusieurs études pour analyser la diversité génétique intra et inter populations et donc pour analyser les mouvements des individus. L'analyse des microsatellites semblait être l'outil idéal pour ce type de ravageur voilier occasionnel, afin de discriminer les populations et de comprendre les stratégies de déplacements/migration de ce ravageur au Bénin. Pourtant, il apparaît que le développement de ces marqueurs chez les lépidoptères est très laborieux et parfois sans garantie de résultats à cause du déficit de loci chez les lépidoptères. Nos résultats (II-3) corroborent ceux de Vassal et al (2008) qui n'ont pas pu observer de structuration génétique des populations avec des marqueurs microsatellites sur des populations d'*H. armigera* piégées en Afrique de l'Ouest. A la suite de ce travail de mise au point, il ressort que les isotopes stables d'hydrogène de même que l'analyse de la flore bactérienne sont des outils fiables pour analyser l'origine géographique des populations d'*H. armigera*. Seulement, nos résultats ont montré que ces outils requièrent des travaux préliminaires sur la zone d'étude. Concernant les isotopes stables d'hydrogène, il faudrait s'assurer à l'avance que le gradient latitudinal est suffisamment élevé pour observer une variation dans la distribution géographique du deutérium. Il faudrait également évaluer la résolution seuil (distance latitudinale seuil) à laquelle il est possible de discriminer deux individus d'origine géographique différente. Nos travaux ont montré qu'il était indispensable de disposer d'individus témoins pour que la méthode soit fiable. Concernant l'analyse de la flore bactérienne, les mêmes analyses préliminaires s'imposent. Il est primordial d'avoir des témoins de plusieurs sites d'études et déterminer comme pour les isotopes stables d'hydrogène un seuil de similitude de la diversité bactérienne hébergée par les individus analysés.

**Partie III : Influence du paysage et des
pratiques agricoles sur l'abondance des larves
d'*Helicoverpa armigera* dans les parcelles de
cotonniers au nord Bénin**

Nous présentons dans cette partie, les résultats issus de l'analyse des déterminants de l'abondance des larves d'*Helicoverpa armigera* dans les parcelles de cotonnier sélectionnées dans un gradient de diversité paysager. La partie III-1 est une synthèse en français de l'étude et la partie III-2, l'article publié dans la revue International Journal of Pest Management en octobre 2013.

III-1 Synthèse de l'étude

Nous avons analysé les déterminants de l'infestation larvaire d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier. Nous avons considéré deux échelles d'analyse : i/ A l'échelle du paysage en considérant les proportions des plantes hôtes d'*H. armigera* qui était majoritaires dans le paysage. Nous avons compté sur deux années (2011 et 2012) au moment des pics d'infestation d'*H. armigera* (septembre-novembre) les chenilles d'*H. armigera* dans 40 parcelles de cotonnier. Les parcelles ont été sélectionnées en fonction de la composition du paysage autour. Les parcelles ont été sélectionnées selon un gradient de diversité paysager suivant quatre critères exclusifs : $\geq 50\%$ de cotonnier, $\geq 50\%$ de maïs, $\geq 50\%$ de végétation naturelle et la présence de parcelles de tomates tout autour (Fig. 12). La couverture végétale dans un rayon de 500 m autour de la parcelle sélectionnée été relevée à l'aide d'un GPS et des fonds de cartes d'images *Google Earth*, puis digitalisée à l'aide d'*ArcGIS* pour extraire finalement les proportions en surface pour les analyses statistiques. ii/ A l'échelle de la parcelle en considérant les pratiques agricoles. Nous avons relevé pour les 40 parcelles sélectionnées quatre pratiques agricoles : le précédent cultural, la date de semis, la fréquence de sarclage et la fréquence d'application des pesticides. Pour mettre en évidence les effets conjoints des pratiques agricoles et de la composition du paysage sur l'infestation larvaire d'*H. armigera*, nous avons utilisé l'approche théorique de l'information développée par Burnham and Anderson (2002). Cette méthode statistique nous a permis de déterminer l'importance relative de chaque variable (pratiques agricoles et variables paysagères) pour expliquer l'abondance des larves d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier.

Les pratiques agricoles sont les variables les plus importantes qui déterminent l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier. Notre étude a montré une corrélation négative entre le nombre de cotonniers infestés par *H. armigera*, la date de semis et la fréquence de sarclage. Il ressort donc que les parcelles semées tardivement (fin juin-début juillet) étaient les moins infestées. Une explication à ce résultat est que la période d'attractivité (floraison) des parcelles semées tardivement se trouve décalée par rapport au pic

d'infestation d'*H. armigera* dans le site d'étude. Les résultats concernant la fréquence de sarclage confirment l'hypothèse de White et al. (1984) selon laquelle les plantes stressées seraient les plus infestées conséquence de l'altération par le stress de leurs propriétés physiologiques de défense. Le stress dans ce cas peut être une conséquence de la compétition avec les mauvaises herbes dans la parcelle. Nos résultats corroborent cette hypothèse : les parcelles les plus souvent sarclées étaient les moins infestées. Par ailleurs, l'étude a montré une forte corrélation positive entre l'abondance des larves et la fréquence d'application des pesticides. Le dosage ou la qualité des produits chimiques épandus peuvent être remis en cause. Aucune étude à notre connaissance n'a encore été réalisée sur la résistance aux pesticides chez des populations d'*H. armigera* dans cette zone d'étude. Nous ne pouvons donc pas avancer l'hypothèse de gènes de résistance aux insecticides dans les populations d'*H. armigera* du Bénin. Nous avons également mis en évidence un effet positif et significatif du précédent cultural sur l'abondance des larves d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier sélectionnées. Les parcelles qui avaient un précédent cultural tomate étaient les plus infestées. Nibouche (1994) avait montré au Burkina Faso qu'*H. armigera* pouvait rester longtemps en diapause. Nous supposons donc que les parcelles de cotonnier ayant un précédent cultural tomate héritent des individus d'*H. armigera* diapausants, lesquels après émergence se reproduisent dans les parcelles où ils ont diapausé.

La présence de cotonnier et de tomate dans le paysage favorisent l'abondance d'*H. armigera*. L'hypothèse de la concentration des ressources développée par Root(1973) selon laquelle les herbivores seraient abondants et susceptibles de s'installer dans les paysages à forte concentration de ressources est vérifiée dans cette étude. En effet, nous avons mis en évidence une relation significative et positive entre l'abondance des larves d'*H. armigera* et la proportion de cotonnier dans l'environnement paysager de la parcelle de cotonnier étudiée. De même, nos résultats montrent que la proportion de tomate dans le paysage avait un effet significatif sur l'abondance des larves. Ces résultats corroborent ceux des études sur le comportement d'*H. armigera* pendant la ponte. Cunningham et al. (1999) et Zalucki et al. (2012) ont montré que les femelles d'*H. armigera* pondaient sur les sites où elles trouvaient elles-mêmes des ressources nutritives (nectar pour les adultes).

Le rôle ambivalent de la végétation naturelle. Plusieurs études ont montré que la végétation naturelle en constituant un refuge pour les ennemis naturels favorisait une régulation naturelle des ravageurs (Chaplin-Kramer et al. 2011). L'introduction des éléments naturels dans les paysages agricoles est de ce fait préconisée par les stratégies de gestion

intégrée des ravageurs. Cependant, certaines études ont montré que pour certains ravageurs comme les méligèthes (Rusch et al. 2012 ; Zaller et al. 2008) ou les pucerons (Roschewitz et al. 2005 ; Thies et al. 2005), la présence des éléments naturels dans le paysage pouvait plutôt avoir un effet positif sur l'abondance des ravageurs. Notre étude montre qu'il en est de même pour *H. armigera*. La proportion de végétation naturelle est positivement corrélée à l'abondance des larves d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier. Nibouche (1994) a montré qu'une adventice « *Cleome viscosa* » présente dans la végétation naturelle au Burkina Faso était infesté d'*H. armigera* dès le début des saisons de pluies. Nous n'avons pas eu l'opportunité de vérifier la composition de la végétation naturelle entourant les parcelles de cotonnier dans le nord Bénin, mais il est possible qu'elle soit composée de *Cleome viscosa* ce qui expliquerait l'effet significatif et positif de la proportion de végétation naturelle sur l'abondance des larves d'*H. armigera*.

Implications des résultats de l'étude pour la gestion intégrée d' *H. armigera* dans les parcelles de cotonnier dans le nord Bénin.

Cette étude montre l'importance des pratiques agricoles et de la composition du paysage pour l'amélioration des programmes de lutte contre d'*H. armigera*. Elle a permis de mettre en lumière l'effet des pratiques agricoles sur l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier. Nous avons montré que les parcelles semées tardivement ainsi que celles les plus sarclées étaient les moins infestées et que le précédent cultural tomate favorisait l'infestation. De plus concernant la composition du paysage, nous avons montré que les parcelles de cotonnier dont les paysages étaient composées de fortes concentrations en cotonnier et celles qui étaient entourées de tomates étaient les plus infestées. Par ailleurs, la présence de végétation naturelle favorise aussi l'infestation. A l'inverse, la présence de maïs n'avait pas d'effet significatif sur l'abondance des larves. La relation étant négative, nous préconisons de privilégier le maïs autour des parcelles de cotonnier plutôt que du cotonnier ou de la tomate.

III-2 Effects of landscape context and agricultural practices on the abundance of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in cotton fields: a case study in northern Benin.

Noelline Tsafack^{*1, 2, 3}, Philippe Menozzi¹, Thierry Brevault¹, Valérie Soti¹, Marc Deconchat², Annie Ouin³

¹CIRAD, Centre UPR «Systèmes de Culture Annuels» CIRAD-Persyst TA B 102/02 Avenue Agropolis 34398 - Montpellier cedex 5.²INRA, UMR DYNAFOR, chemin de borde rouge, Bp 52627, F- 31320 Castanet Tolosan Cedex France.³Université de Toulouse, INP-ENSAT, UMR DYNAFOR, Avenue de l'Agrobiopole. Bp 32607 Auzeville. 31326 Castanet Tolosan

Abstract. *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) is a polyphagous pest of global importance, threatening several key crops, including cotton. This study analysed the influence of landscape composition and agricultural practices on the abundance of *H. armigera* larvae or the proportion of infested plants (infestation) in cotton fields in northern Benin. In 2011 and 2012, the abundance of *H. armigera* was monitored during the rainy period with weekly observations of 50 cotton plants in 20 fields selected each year. We selected cotton fields based upon the composition of the surrounding landscape (cotton, tomato and maize, and natural vegetation) within 500 metres radius buffers. We recorded agricultural practices, included sowing date, crop rotation, and frequencies of weeding and of treatment with insecticides. To assess any relationship between the pest problem and landscape and management, we fitted logistic multiple regression models and compared all the possible models using an information-theoretic approach, based on the AIC criterion. Cotton fields surrounded by cotton crops were found to have significantly higher infestation rates. Natural vegetation was positively correlated to the level of infestation. This study highlights the importance of considering both landscape variables and agricultural practices to improve *H. armigera* strategies management.

Key Words: *Helicoverpa armigera* – Information theoretic approach - larval count - landscape diversity - pest management - Tomato - Maize.

III-2-1 Introduction

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) is a polyphagous pest that on the global scale is one of the most important threat to several crops (Fitt 1989). Manjunath et al. (1989) recorded about 180 cultivated and uncultivated plants species that have been attacked by *H. armigera* around the world. It damages tomato (Walker et al. 2010), maize (Fefelova and Frolov 2008), soybean (Johnston et al. 1993; Naseri et al. 2010), sorghum (Sharma 1985) and cotton crops (Fitt 1989; Kranthi et al. 2002; Prudent et al. 2007; Baker et al. 2008; Brevault et al. 2008, Yu et al. 2008). Infestation of cotton fields can be particularly harmful because *H. armigera* has high mobility and feeds directly on the reproductive parts of the plant (Reed and Pawar 1982). In many countries, the use of insecticides and transgenic crops (Bt) to control *H. armigera* may lead to the development of resistance and environmental problems. There is, therefore, growing interest in alternative ways of controlling *H. armigera*, such as field and landscape management, either to directly reduce *H. armigera* abundance or to favour its' natural enemies.

Numerous studies have investigated the effect of landscape on pest and natural enemy abundance (Bianchi et al. 2006; Chaplin-Kramer et al. 2011; Veres et al. 2011). Landscape mosaic composition may affect pest abundance directly by offering suitable habitats (food or oviposition sites) or indirectly by favouring natural enemies that can regulate pests. Two common statements have been that complex landscapes reduce pest pressure and that non-crop habitats which shelter natural enemies enhance pest control. These expectations are not general, however, as they depend on the ecology of the organism in question. Bianchi et al. (2006) quantified pest pressure in 10 studies and reported that in about 45% of the studies pest pressure was reduced in complex landscapes. They recorded that in 40% of the cases, landscape composition had no effect on pest pressure and finally that the abundance of pests was enhanced in complex landscapes in 15% of the cases studied. The results were in accordance with the resource concentration hypothesis (Root 1973), with landscapes containing a high cover of cultivated host plants being relatively simple. Bianchi et al. (2006) reported that in about 74% of 24 studies, the observed population of natural enemies was positively affected by landscape complexity, and that in 20.8 % of the cases studied there was no landscape effect. It would therefore appear that the effect of landscape complexity on natural enemies is more straightforward than it is for pest abundance. Chaplin-Kramer et al. (2011) reviewed 46 studies and concluded that the effect of landscape composition may

depend on the diet of the natural enemies or pest population concerned. Generalist natural enemy populations were positively correlated to landscape composition at all scales, while populations of specialist species were positively affected only at small scales. However, no effects of landscape complexity either on specialist or generalist pest abundance were found in the 46 studies. In contrast, Fahrig and Jonsen (1998) found that landscape diversity strongly enhances generalist pest abundance, while any effect on specialist pests could not be clearly identified. Similarly, Carrière et al. (2012) found that the density of *Lygus hesperus*, a generalist pest infesting cotton fields, was higher in complex landscapes. Thus, our proposed hypothesis is that landscape diversity could act to enhancing *H. armigera* abundance and plant infestation.

At the field scale, agricultural practices such as crop rotation, intercropping, tillage, topping and drainage strongly influence biodiversity (McLaughlin and Mineau 1995; Benton et al. 2002; Ammann 2004) and thus may influence the abundance of pests (Abd-Ramou and Simmons 2012; Duyck et al. 2012). Renou et al. (2011) showed that manual topping effectively reduced *H. armigera* infestation in cotton fields. Lu and Baker (2013) also showed that ploughed fields were less infested by *H. armigera* larvae than unploughed fields. Among all these practices, crop rotation emerges as the agricultural practice that most consistently reduces pest infestation (Ammann 2004; Thies et al. 2008; Mock et al. 2012). The effect of other farming practices such as manual weeding or shifting the sowing date have not yet been tested and there is a paucity of studies that test the beneficial effects of such agricultural practices adopted by smallholders. Here we hypothesize that manual weeding will reduce infestation more than tillage, and that by moving the date of sowing, the period of attractiveness of the crop for *H. armigera* will be shifted away from the peak presence of this pest.

We test these hypotheses for the effects of landscape context and agricultural practices at field scale on the abundance of *H. armigera* in cotton fields in Northern Benin. In West Africa, *H. armigera* is multivoltine and can undergo over 10 generations per year, with a full life cycle being completed in one month. In neighbouring Burkina Faso, Nibouche (1994) recorded a large number of adult of *H. armigera* during the rainy season, most of which were in cotton fields at the flowering stage, as compared with almost none during the dry season (mid-November to mid-May). The periods of attractiveness of the different host plants for *H. armigera* during the year were determined, and it was found that *H. armigera* initially infests

a native weed plant (*Cleome viscosa*) at the beginning of the rainy season, before infesting maize crops and then flowering cotton during September and October. At the end of the rainy season, from November to March, *H. armigera* heavily infests tomato crops grown near rivers. Nibouche (1994) found chrysalides in the soil of fields previously sown with cotton and tomato confirming that *H. armigera* can enter in diapause during the last months of the dry season (April-May). These findings highlight the importance of the previous land cover to explain *H. armigera* infestation.

Based on the available literature on landscape effects on pest and the biology of *H. armigera* we constructed landscape cover factors that we believed could influence larval abundance. These were landscapes containing high proportions of: i) cotton crops, given that cotton crops around a target cotton field might increase the abundance of *H. armigera* larvae; ii) maize (first cultivated host plant); iii) tomato; and, iv) natural vegetation. We considered natural vegetation as a factor with two potential roles, first contributing to the very early development of *H. armigera* with the presence of a native host plant (*Cleome viscosa*), and then providing a habitat for *H. armigera* predators and parasitoids which could reduce the abundance of larvae (Tscharntke 2000; Menalled et al. 2003; Schmidt and Tscharntke 2005). Given the polyphagous diet of *H. armigera*, the landscape diversity of the crop mosaic was considered. Then, at the field scale, we addressed the hypothesis that, a manually weeded field should have lower infestations, because any pupae diapausing in the soil would be destroyed. We also considered the sowing date and the previous crop of the studied cotton field as factors that could influence the abundance of *H. armigera* larvae.

III-2-2 Materials and methods

III-2-2-1 Study area

The study was carried out near the town of Angaradébou (11°29'-3°20'N) in northern Benin, West Africa (Fig. 35). Northern Benin is one of the most productive cotton areas in West Africa (EIU 2008). This region is also one of the most infested by *Helicoverpa armigera* (Cauquil and Vaissayre 2000; Martin et al. 2005) with damage levels of up to 50% of the yield. The region is characterized by a tropical semi-arid and dry southern Sahel climate, consisting of a dry season lasting 8 months (from October to mid-May) and a rainy season (from the end of May to early October). The agricultural system is based on smallholder farming (0.25-2 ha) of staple crops (maize, millet, sorghum, soybean, cowpea, nuts) and larger cotton farms (5-10 ha). During the dry season, vegetable crops are cultivated near wetlands and permanent rivers, and the overall agricultural surface area declines by about 80% compared to the rainy season. Cotton is sown between end of May and middle July during the rainy season and harvested from November to December.

III-2-2-2 Sampling design and landscape selection

Forty cotton fields, with different landscape compositions in 500m radius, were sampled (20 in 2011 and 20 in 2012). To test our landscape hypothesis, 4 types of landscape were considered: i) landscapes covered by more than 50% cotton, ii) landscapes with more than 50% maize, iii) landscapes with tomato crops around (considered only in 2012); and, iv) landscapes with more than 50% natural vegetation. We actively searched for and included fields of cotton with tomato as the previous landcover. For each type of landscape, we selected five replicate cotton fields in each sampling year.

There were no maps available to select the sampling fields based upon the 4 landscape types. Thus, for field selection we proceeded through 3 steps. First, we interviewed local experts in the cotton industry to identify regions that might fulfill the required conditions defined for the 4 landscape types. Second, we interviewed cotton farmers about the crops surrounding their fields to identify potential cotton fields with appropriate landscape types. Thirdly, we used a GPS to map and 'ground-truth' the landcovers around each selected field in order to validate the conditions of a given landscape type. In 2011, the most distant landscapes were 20 km

apart. In 2012, this distance increased to 60 km. The total study area was approximately 200 km² in 2011 and 1000 km² in 2012 (Fig. 35).

We plot a square area of 0.5 ha around the center of each selected cotton field, avoiding the five first rows of cotton plants in small fields to limit edge effects (sparse, trampled, rickety or more infested cotton plants).

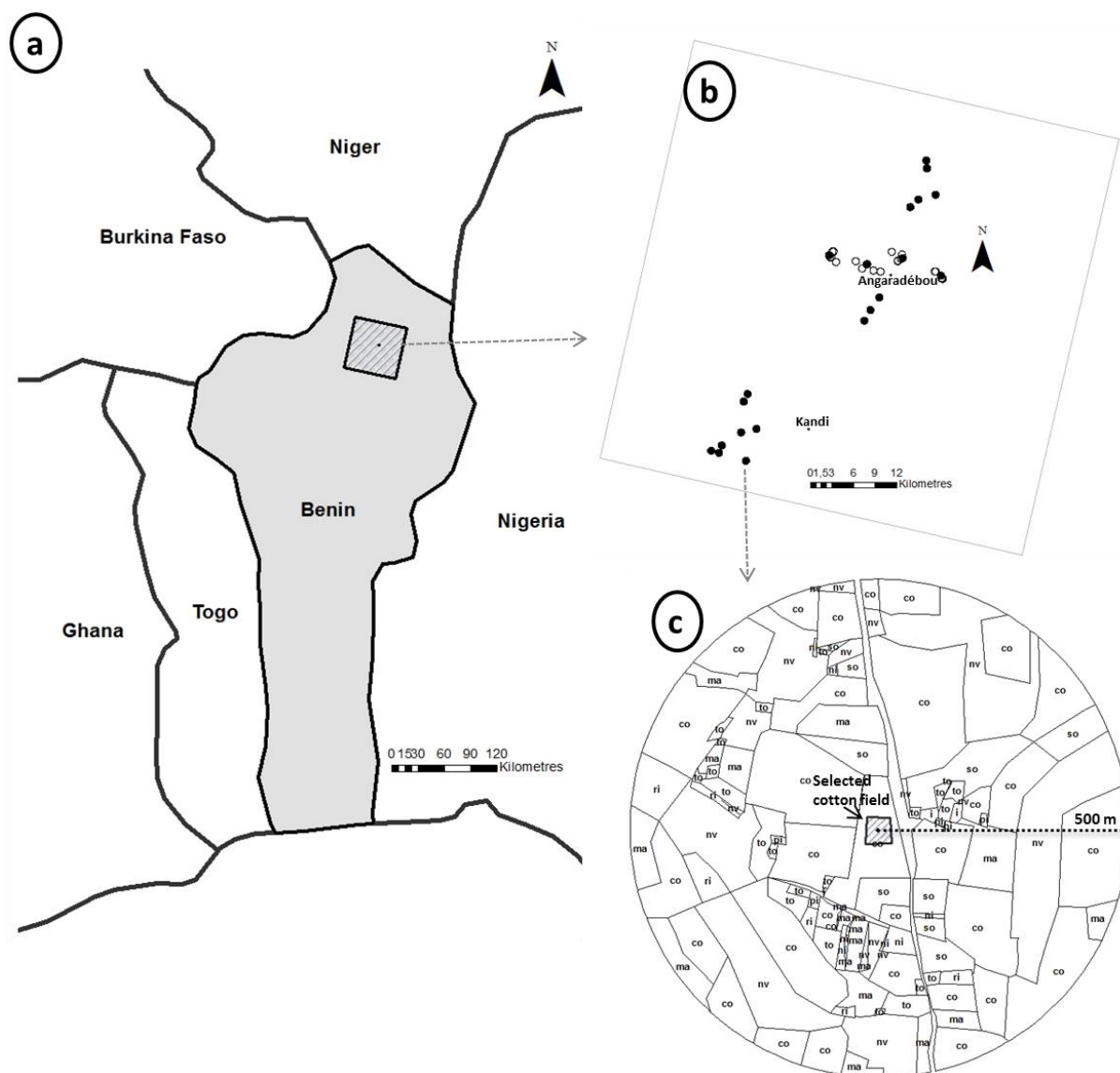


Figure 35. Map of the study area: a- represents the location of the study area in Northern Benin – b- represents the distribution of selected fields: empty buffers are those of 2011 and filled those of 2012– c- represents the buffer around one of the 40 selected cotton fields (the selected cotton field represented by the black square in the center).

III-2-2-3 Data Collection

a) Larvae counting in cotton fields:

Between September and November, cotton fields were visited four times in 2011 and on six occasions in 2012 to measuring the abundance of *H. armigera* larvae and infestation of plants. For each visit, 25 cotton plants were randomly selected along the diagonals of each plot (total of 50 cotton plants observed per field). Larvae were counted on all the parts of the cotton plants. For each selected cotton field, observations were made weekly between 6.00 am and 8.00 am.

b) Landscape and field variables:

Landscape composition: crop fields and natural vegetation patches were recorded in a 500 m radius buffer around the centre of the plot in each cotton field where *H. armigera* larvae were sampled. *H. armigera* is a migrant species able to travel long distances (Fitt et al. 1995), but its' "trivial movement distance" is poorly known (Mazzi and Dorn 2012). The choice of a 500 m radius was a trade-off between the mean cotton field size (1ha, i. e. around 100 metres side) and our landcover recording capacity in the field.

Due to the lack of available current remote sensed data or aerial photographs for the studied area, digitalisation of landcover recorded around the selected cotton field was based on a georeferenced Google Earth satellite image (Google Earth 2011 and 2012). Land cover data were then integrated in a GIS using ArcGiS 10 geographical information system (ESRI France, 2011). We then extracted the proportion of each landcover type and estimated for each field the surrounding landscape diversity using Shannon diversity index (H; Shannon 1948) (Tab. 7).

Agricultural practices at field scale were recorded by interviewing the farmers of the selected cotton fields. We recorded the sowing date, the frequencies of weeding and the previous crop (Tab; 7; Tab. 8). Given that insecticides are used by farmers to reduce pest infestation in their farms, we recorded the frequency of treatment by insecticides.

Tableau 7. Explanatory variables and their recorded ranges.

	Variables (units)	Description	Mean	Range
Landscape variables	Co (%)	Proportion of cotton crops	25	3-68
	To (%)	Proportion of tomato crops	1	0-8
	Ma (%)	Proportion of maize crops	24	3-87
	NV (%)	Proportion of natural vegetation	38	5-80
	H (Shannon index)	The Shannon landscape diversity index (H) (Shannon 1948) was used to measure the habitat cover diversity in each surrounding landscape. $H = -\sum P_i \log P_i$ where P_i is the proportion of habitat in the i th land-cover category.	0.35	0.14-0.52
Agricultural variables	Seeding (days)	Number of days between 1 st January of the year and the actual seeding date (According to the Julian days)	159	141-182
	Weeding	Frequency of manual weeding of the field	3	1-4
	Treatment	Frequency of insecticide treatment during the cotton plant cycle	9	5-12

Tableau 8. Variables of the previous crops and number of fields

The previous crop	Nb of fields
Peanut	2
Cotton	4
Natural vegetation	3
Maize	20
Sorghum	2
Tomato	9

III-2-2-4 Statistical analyses

Generalised linear mixed models (GLMM), with a binomial distribution and logit link function, were used to model the relationship between agricultural practices and landscape variables, and the number of cotton plants infested by *H. armigera* as a proportion of the number of non-infested plants. Collinearity of variables was checked using Pearson correlations between pairs of explanatory variables (Pearson 1958). All the variables were retained in the modelling as they did not show great collinearity, with $|r| > 0.7$ (Dormann et al. 2012).

The year of sampling was treated as a random effect, both because infestation rate was not the same between 2011 and 2012, and because some of the same fields (four fields) were selected in both years. As fixed effects, we used all the field scale and landscape variables (tab; 7; Tab. 8). We considered only additive effects, and excluded any interactions between variables. In part, the interactions could not be explored due to the relatively large number of explanatory variables. Fixed effects were scaled and centered to compare estimates with each other and to facilitate the model convergence. GLMMs were systematically checked for data over-dispersion and spatial autocorrelation in model residuals. We found no evidence of over-dispersion or spatial structure, in model residuals tested with Moran's correlograms.

Modelling was carried out using an information-theoretic approach (Burnham and Anderson 2002; Kamil 2013) by fitting and then comparing all the possible models ($n = 2^9 = 512$) in order to extract the relative importance of each explanatory variable. Models were assessed using the corrected Akaike's Information criterion (AICc) and assigned Akaike weights (W_m) (Sanderson et al. 2009). Akaike weight (W_m) is the relative likelihood of a given model being the Kullback-Leibler best model within a set of n models. A model is accepted as the best model when $W_m > 0.9$ (Burnham and Anderson 2002). Model assumptions were tested by examining the Gaussian distribution of the residuals. As none of our models showed a $W_m > 0.9$, we constructed a 95% confidence set of models by starting with the highest Akaike weight and adding the model with the next highest weight until the cumulative sum of weights exceeded 0.95 or the smallest model set with $W_m \text{ sum} > 0.95$. (Burnham and Anderson 2002; Johnson and Omland 2004). We used these final set of best models to obtain the averaged model. We then, generated the relative importance of each explanatory variable.

The relative importance of an explanatory variable is the sum of AICc weights over all of the models including the explanatory variable (Burnham and Anderson 2002).

To identify those previous host crops (tomato, maize, cotton, sorghum) that favour *H. armigera* abundance, a Mann-Witney test was performed. All statistical analyses were carried out using the free statistical software R (R Core Team (2013). Version 2. 15. 2). The packages used were “lme4” for running the GLMM, “ncf” for Moran’s correlograms, “spdep” for autocorrelation analyses and “MuMIn” for model selection.

III-2-3 Results

We sampled 893 larvae on 711 infested cotton plants in 2011 and 1233 larvae on 889 infested cotton plants in 2012.

III-2-3-1 Effects of Landscape and agricultural variables on the abundance of *H. armigera* larvae:

The cotton (Co), tomato (To) and natural vegetation (NV) land cover in a circular area with a radius of 500m around cotton crops contributed positively and significantly to *H. armigera* larvae abundance (Tab. 9). Landscape diversity (H) exhibited a positive but marginally non-significant effect ($0.05 < P < 0.1$) on the abundance of *H. armigera* larvae. The effect of the proportion of maize was not significant on *H. armigera* larvae abundance (Tableau 9).

The sowing date and frequency of weeding were significantly and negatively associated with the abundance of *H. armigera* larvae (Tab. 9), while the previous tomato landcover and the frequency of insecticide treatment were positively and significantly associated with the abundance of *H. armigera* larvae (Tab. 9). When comparing the infestation rate between different previous land cover types (tomato, maize, sorghum, cotton), we found that those fields previously covered with tomato were significantly more infested than those covered with maize. Those covered with cotton or sorghum, showed intermediate infestation rates (Fig. 36).

Tableau 9. Model-averaged parameter estimates and standard errors, for landscape and agricultural practice variables included in the 95% confidence set of logistic regression models performed to predict *H. armigera* incidence. ('***' $P < 0.001$; '**' $P < 0.01$; '*' $P < 0.05$; 'i' $P < 0.1$; ' ' $P < 1$) See description and range in Tab.7 and Tab.8.

Variables	Estimate	Std. Error
(Intercept)	-1.79***	0.15
Cotton	+0.35*	0.16
Tomato	+0.30**	0.09
Maize	-0.16	0.14
Natural vegetation	+0.44*	0.23
H (Shannon index)	+0.38 ⁱ	0.20
Seeding date	-0.22***	0.07
Weeding frequency	-0.51***	0.08
Treatment frequency	+0.43***	0.10
Previous landcover	+0.52*	0.24

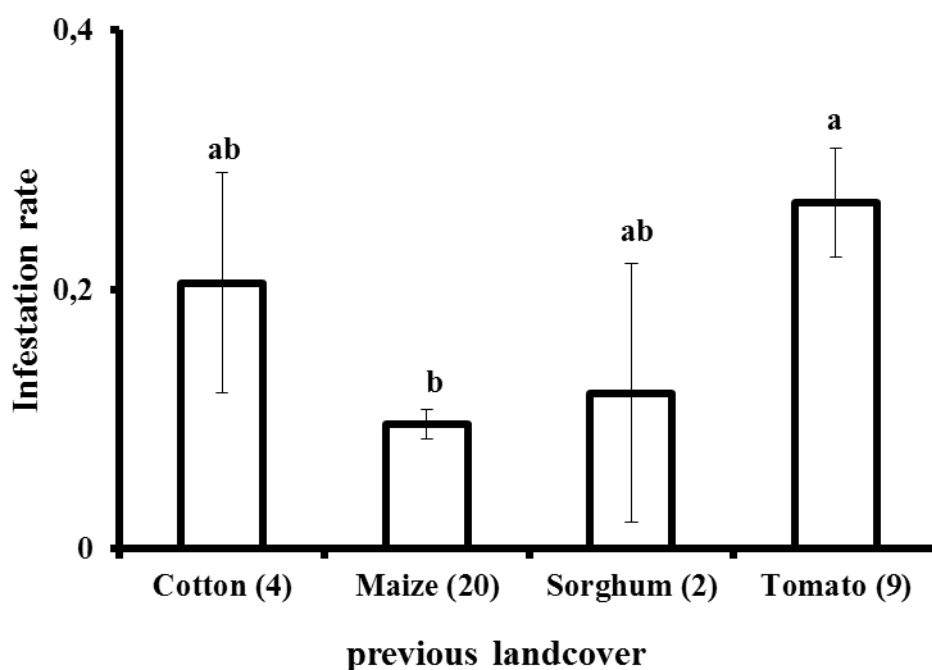


Figure 36. *H. armigera* infestation rate (number of infested cotton plants per number of observed cotton plants) discriminated by previous land cover type. We detail only previous land cover types that are host plants for *H. armigera*. Letters indicate statistical differences of Mann-Whitney test among previous land cover types.

III-2-3-2 Relative importance of each variable

Of the explanatory variables, the frequency of treatment and of weeding, and the sowing date had the most important influence, in that order, on the abundance of *H. armigera*, with a relative importance value of 1, 1 and 0.98 respectively (Fig. 36).

Tomato cover appeared as the most important variables among landscape variables with a relative importance value of 0.96, followed by cotton, natural vegetation and previous landcover, showing a relative importance value of 0.8, 0.7 and 0.7 respectively. Diversity (H) and maize cover exhibited the lowest relative importance value at 0.54 and 0.42, respectively (Fig. 37).

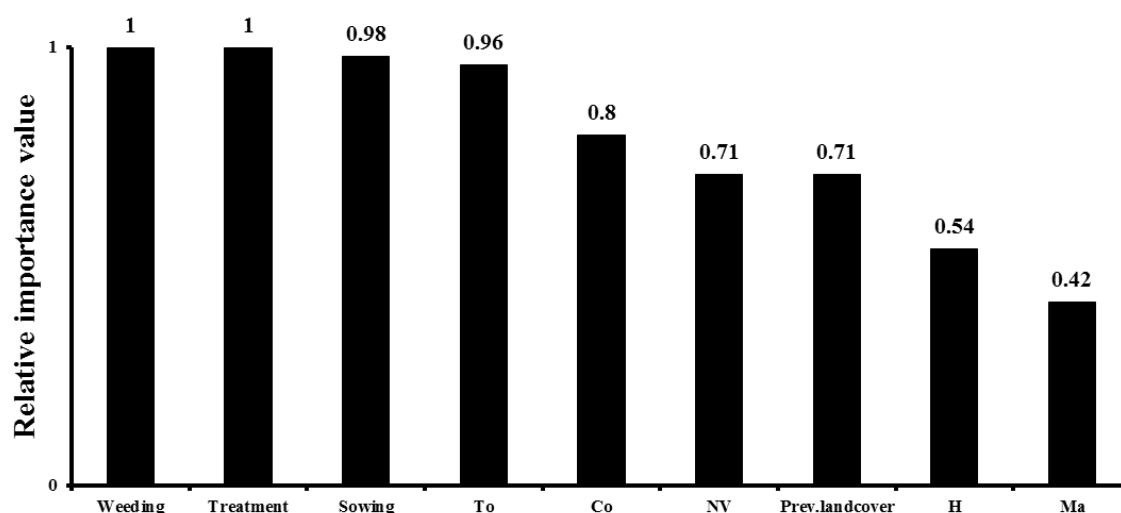


Figure 37. Relative importance of predictor variables included in the multiple logistic regression models performed to predict *H. armigera* incidence.

III-2-4 Discussion

III-2-4-1 Weeding cotton field and sow later decrease the abundance of *H.armigera* larvae.

We found that the more the farmers had weeded, the less there were *H. armigera* larvae in their field. We recorded that farmers weeded their cotton fields in average 3 times throughout the entire cotton cycle. The attractiveness period of cotton for *H.armigera* is during the flowering period (Nibouche 1994), and this frequency of weeding occurs at the

right time to strengthen the cotton plant by removing competitive plant species and favouring plant defences against pests. One can also hypothesize that weeding might have destroyed the pupae of the first generation of *H. armigera* supported by the cotton plants.

We also found that sowing date influenced the abundance of larvae. Cotton fields sown later were less infested by *H. armigera* larvae. Based on farmer interviews, we recorded that the latest sowing dates were during the first ten days of July and the earliest were from the end-May to early June. Between these early and the late sowing dates, there is a shift in crop phenology of about 1 month; cotton fields sown later bloomed later. Hence, the late flowering period avoided the *H. armigera* infestation peak. This is consistent with the expectations of Palti (1981) on natural pest control, who argued that avoiding fixed sowing dates enhances pest management in agricultural system.

Surprisingly, we found a positive and strongly significant relation between the frequencies of insecticides treatment and the abundance of *H. armigera* larvae. No other study to our knowledge has demonstrated such results. Knowing that cotton farmers use insecticide treatment an average nine times during the cotton cycle, we have doubts about the dosage and quality of insecticides used. We would also hypothesize that *H. armigera* population in Northern Benin became insecticide resistant, as shown for *H. armigera* populations in Northern Cameroun (Brevault et al. 2008). It may also be that our observations are due to a correlation effect where more chemical treatments were applied by farmers in response to more pests in the field.

III-2-4-2 A strong effect of previous landcover

Our results suggest that the previous landcover was one of the most important variables influencing the abundance of *H. armigera* larvae. More infested cotton plants were found in fields with tomato as the previous landcover. Nibouche (1994) showed that *H. armigera* can undergo a diapause of three months in Burkina Faso, under similar weather conditions to northern Benin. In that case, tomato fields harvested at the end of February can support *H. armigera* pupae in the soil. Hence, cotton crops following tomato can suffer from heavy local infestations caused by the last diapausing generation. The effects of an inter-annual change in landscape have been shown for several pest species (Roschewitz et al. 2005; Thies et al. 2008; Rush et al. 2012, Vinatier et al. 2012). Rusch et al. (2012) investigated the

effect of local and landscape determinants on the abundance of pollen beetle. They reported that crop rotations by providing, or not, overwintering habitats are likely to influence the abundance of pollen beetles in rape crops. Thies et al. (2008) experimentally tested the effect of crop rotation for the same pest. They found that even if there is no a direct effect on the abundance of pest, crop rotations strongly influence the pest pressure by affecting parasitism of the pest by natural enemies. Vinatier et al. (2012) developed a model which also showed that crop rotation greatly affects both the abundance of pollen beetle and the rate of parasitism.

III-2-4-3 *H. armigera* was more abundant in cotton field surrounded by host plant crops

We found a strong and positive relation between the proportion of cotton crops and the abundance of *H. armigera* larvae, consistent with the resource concentration hypothesis (Root 1973). Cotton fields surrounded by proportionally more cotton fields were the most infested by *H. armigera* larvae. These results are consistent with the behavioral strategies of *H. armigera*. Cunningham et al. (1999) and Zalucki et al. (2012) showed that *H. armigera* ovipositing females exhibited “Learning”, defined as a change in behaviour based on past experience (Papaj and Prokopy 1989), whereby females would lay eggs where they found more food (nectar in this case for adults). Hence, flowering cotton, by providing nectar for *H. armigera* moths, attract at the same time ovipositing females which lay their eggs in the cotton.

We found a positive and significant relation between the proportion area of tomato and the abundance of *H. armigera* larvae. In northern Benin, small farmers used to traditionally cultivate small market gardens around cotton fields throughout the rainy season. Given that tomato crops are attractive to *H. armigera* during the 2-3 months from flowering to the beginning of fruit maturation and that the sowing date of these small market gardening is usually earlier than for cotton, the tomato crops can be considered as an outbreak source of moths which subsequently colonize and lay eggs in the neighbouring flowering cotton fields. Our findings are consistent with those of Lu and Baker (2013), who found that the proportion of tomato crop area was positively related to the abundance of *H. armigera* moths. They reported that tomatoes, by flowering earlier than cotton provide alternative sites for oviposition.

The proportion of maize could have followed the same relationship as tomato, as maize is one of favoured host plants of *H. armigera* (Fefelova and Frolov 2008). We did not, however, observe any significant relationship between the proportion of maize and the abundance of *H. armigera* larvae. This could have been due to the short period of attractiveness of maize for *H. armigera* (two weeks) or that most maize crops were harvested during October.

Our results do not show any relation between the Shannon diversity index of crops with the abundance of *H. armigera* larvae. However, Lu and Baker (2013) found that the diversity of host plant in a landscape increases the abundance of *H. armigera* moth. They argued that the variation in type of host crops provide more suitable food, availability of oviposition and pupation sites and variable host plant phenologies which consequently heightens the abundance of this generalist pest.

Our results do show a positive and significant relation between the proportion of natural vegetation and the abundance of *H. armigera*. This natural vegetation may harbour *Cleome viscosa*, a weedy host plant of *H. armigera* (Nibouche, 1994), which could provide a first host plant at the beginning of the rainy season and thus support *H. armigera* infestation of neighbouring cotton fields. Landscape complexity may be defined as the proportion of natural vegetation present in a landscape (Chaplin-Kramer et al. 2011). While not common, Bianchi et al. (2006) recorded about 5% of 24 studies where natural enemy activity was lower in complex landscapes and 15% of 10 studies where pest abundance was higher in complex landscapes. Roschewitz et al. (2005) and Thies et al. (2005) found that the population density of the aphid, *Sitobion avenae*, increased in complex landscapes because of the presence of alternative hosts plants.

III-2-4-4 Which landscape design and agricultural practices can be highlighted to help improve the *H. armigera* natural management strategy?

This study highlights the importance of local agricultural practices and landscape composition for the improvement of pest management programs for *H. armigera*.

We found that patterns of abundance and infestation of *H. armigera* larvae, while not a specialist pest, support the 'resource concentration' hypothesis. Both the proportion of cotton and tomato increase the abundance of larvae. According to our findings, sowing later would

reduce levels of infestation in the landscape. Additionally, weeding the fields is a local management practice that should be encouraged to reduce *H.a rmigera* infestation in cotton fields. It seems likely that avoiding large concentrations of cotton fields and tomato crops, as previous landcover, would reduce *H. armigera* abundance. The positive effect of natural vegetation is also important, and it would be interesting to compare this effect with the abundance of adults (Partie IV).

In conclusion, to establish an appropriate and effective framework for *H. armigera* management, there is a need to take into account both agricultural practices and landscape context. Futures studies should be directed towards understanding the requirements of the natural enemies of *H. armigera*. Testing the effects at a larger scale will enhance our understanding of *H. armigera* infestation in cotton fields.

Acknowledgements

This work was supported by the FSP program (*Fond de solidarité prioritaire*) from the French Ministry for Foreign Affairs (MAE). We are extremely thankful to the cotton farmers of Angaradébou in northern Benin for their interest in the project and for allowing us to do research in their fields. We thank the local cotton experts of Kandi in Northern Benin. We thank Dr David Bohan for his relevant comments and for his help in english revision. Comments by Dr Audrey Alignier and Dr Michel Goulard and an anonymous referee greatly improved this paper. Noelline Tsafack's Ph.D fellowship was granted by the CIRAD.

**Partie IV : Étude des déterminants paysagers
de l'abondance et l'origine trophique des
adultes d'*Helicoverpa armigera* dans les
parcelles de cotonniers au nord Bénin.**

Nous présentons dans cette partie une synthèse des résultats issus de deux études. Dans un premier temps, nous présentons les résultats issus des travaux de mise au point méthodologique de deux marqueurs de l'origine trophique (le gossypol et la tomatine). Dans un second temps, nous présentons les résultats issus de l'analyse des déterminants de l'abondance et de l'origine trophique des adultes d'*Helicoverpa armigera* piégés dans des paysages contrastés, selon un gradient de diversité des principales plantes hôtes (coton, tomate, maïs et sorgho) présentes dans la zone d'étude. Ces deux études sont en cours de soumission ; la première étude a été soumise dans la revue *Entomologia Experimentalis et Applicata* et la deuxième est soumise dans la revue *Basic and Applied Ecology*.

IV-1 Synthèse de l'étude : Mise au point des méthodes de détection de la tomatine et du gossypol chez *Helicoverpa armigera*.

Une gestion intégrée efficace des ravageurs s'appuie sur une bonne connaissance de la biologie et de l'écologie de l'espèce étudiée. Il est de fait important de connaître les stratégies d'utilisation des ressources dans un paysage agricole, particulièrement pour les ravageurs polyphages comme *H. armigera*. Dans ce but, plusieurs méthodes ont été développées pour déterminer l'origine trophique des insectes ravageurs (Partie II-1). Parmi les méthodes proposées dans la littérature, les marqueurs spécifiques aux plantes hôtes semblent les plus pertinentes, car ils permettent de déterminer avec précision la plante hôte sur laquelle le ravageur a passé sa vie larvaire (ceci dans le cas où l'individu à l'état larvaire n'a qu'une seule plante hôte comme c'est le cas pour les chenilles d'*H. armigera*). Dans notre zone d'étude, les principales plantes hôtes d'*H. armigera* présentes sont le coton, la tomate, le maïs et le sorgho. L'analyse des isotopes stables de carbone permettent de discriminer l'origine trophique d' *H. armigera* en fonction du type photosynthétique de la plantes hôte (C3 ou C4) (Brévault et al. 2012). Dans notre cas d'étude, le maïs et le sorgho constituent les plantes hôtes en C4 et le coton et la tomate les plantes hôtes en C3. Rojas et al. (1992) ont montré que le gossypol était une molécule spécifique au cotonnier. Par ailleurs, Orth et al (2007) ont montré que les résidus de gossypol étaient détectés dans les extraits d'adultes d'*H. zea* qui avaient passé leur vie larvaire sur le cotonnier. Le gossypol peut donc être considéré comme un marqueur de l'utilisation du coton par un adulte d'*H. armigera* pendant sa vie larvaire. De la même façon, des études ont montré que la tomatine était une molécule spécifique à la tomate (Friedman et al. 2002, Tohge et al. 2014). Ces molécules sont produites par le système

de défense des plantes hôtes. Le premier travail que nous avons conduit a consisté à mettre au point une méthode de détection des marqueurs de la tomate et du coton chez *H. armigera*: la tomatine et le gossypol. Cette mise au point méthodologique est un préalable nécessaire pour i) tester si la séquestration de la tomatine s'effectue uniquement chez les larves ou aussi chez les adultes d'*H. armigera* et pour ii) déterminer si la concentration de gossypol diminue avec l'âge de l'insecte ceci pour éviter les faux-négatifs due à la longévité d'un individu.

La méthode de détection a été mise au point sur des individus élevés au laboratoire de l'IRAD de Garoua/Cameroun dont le développement a été arrêté à quatre stades (chenille L6, adulte 0jour, adulte 6 jours et adulte 12 jours (Fig. 7) et sur trois sources nutritives (cotonnier, tomate et maïs). La méthode de détection de la tomatine a consisté en une chromatographie liquide suivie d'une spectrométrie de masse (LC/MS) sur des extraits de chenilles et de corps (tête et abdomen) d'adultes d'*H. armigera*. Pour la détection du gossypol, nous avons réalisé également une chromatographie liquide suivie d'une double spectrométrie de masse (LC/MS/MS). Les travaux ont été menés à l'Université d'Amiens pour l'analyse de la tomatine et par la société MONSANTO de St-Louis/USA pour les analyses de gossypol. Dans chaque laboratoire, j'ai effectué des séjours.

Les résultats de cette étude montrent que la tomatine est détectée dans les extraits des larves *H. armigera* mais pas dans ceux des adultes. Pour la détection du gossypol, le signal est positif chez tous les individus testés même dans les extraits d'adultes âgés de douze jours. A partir de ces résultats, nous concluons que la tomatine n'est pas un bon marqueur puisqu'elle ne permet pas de discriminer l'utilisation de la tomate par les adultes. A l'inverse, le gossypol apparaît comme un bon marqueur de l'utilisation du coton comme plante hôte par *H. armigera*.

Notre étude ouvre alors des perspectives quant à la détermination d'un marqueur de la tomate. Une piste proposée est de s'orienter vers la détection des métabolites de tomatine chez *H. armigera* car il est possible que *H. armigera* synthétise des enzymes β -glucosidases capables de dégrader la tomatine comme cela a été montré qu'*H. armigera* synthétisait des enzymes (serine protéases) pour détoxifier les molécules de défense produites par le soja (Brown et al. 1997).

IV-2 On the use of gossypol and tomatine to determine the trophic origin of a polyphagous pest (*Helicoverpa armigera*)

NOELLINE TSAFACK^{1, 2,*}, JAE HAK KIM³, GRAHAM HEAD³, JACQUES ATTOUMBRE⁴, PATRICK PRUDENT⁵, PHILIPPE MENOZZI⁶, ANNIE OUIN¹

¹INP-ENSAT, UMR DYNAFOR, Avenue de l'Agrobiopole, BP 32607 Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France

²INRA, UMR DYNAFOR, chemin de borde rouge, Bp 52627, F- 31320 Castanet Tolosan Cedex France

*Corresponding author mail address: noelline.tsafackmenessong@ensat.fr Tel: +33 (0)6 52 34 38 50 Fax: +33 (0)5 34 32 39 01

³MONSANTO LLC, 800 North Lindbergh Blvd, St. Louis, MO 63167 USA

⁴S.I.P.R.E EURL Rue Dallery - Passage du sourire d'Avril, 80039 Amiens Cedex 1, France

⁵CIRAD, Dpt PERSYST, UPR 102 AIDA – BP 1146, Garoua, Cameroon

⁶CIRAD, Dpt PERSYST, UPR 102 AIDA - 08 BP 841, Cotonou, Benin

Abstract-*Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808), (Lepidoptera: Noctuidae) is a highly polyphagous pest that causes yield losses to several crops including cotton and tomato worldwide. In this study, we aimed at identifying tomatine and gossypol as markers of larval diet of *H. armigera*, using liquid chromatography/mass-spectrometry (LC/MS) technique and evaluating the stability of tomatine and gossypol in adults. Larvae and adults of different ages reared on tomatoes, cotton leaf and maize in laboratory were tested for gossypol and tomatine residues. We found a positive tomatine signal from larvae, but not from adults whereas a gossypol-derivate was detected in both larvae and adults (up to twelve days) reared on cotton. Our results suggest that tomatine is not a reliable biomarker to track the use of tomato plants by *H. armigera*. On the other hand, a gossypol-derivative can be used as a biomarker to track the cotton as a larval host plant since the biomarker was detected even in a 12-day old adult moth which fed on cotton during their larval stage. Further analyses may lead to discovery of potential metabolites from tomatine breakdown in adult moth bodies. They may then be used as a biomarker to track the use of tomatoes plants and understand the role of vegetable crops for sustaining *H. armigera* population in cotton production landscapes.

Key Words-Tomatine, gossypol, *Helicoverpa armigera*, host plant use, cotton, tomato.

IV-2-1 INTRODUCTION

The cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner 1808), (Lepidoptera: Noctuidae) is a highly polyphagous pest that causes yield losses to several crops including cotton, cereals such as maize and sorghum (Sharma 1985; Fefelova and Frolov 2008), vegetables crops including tomato, soybean, and okra (Johnston et al. 1993; Naseri et al. 2010; Walker et al. 2010; Udamale et al. 2013), and weeds plants (*Cleome viscosa*) (Marcos and Rejesus 1992; Nibouche 1994).

Because *H. armigera* is a severe economic pest in most places where it occurs many control programs have been established relying on the use of chemicals. However, the decline of pesticide effectiveness is increasingly observed on *H. armigera* population worldwide (Fitt et al. 1995; Scott 1999; Martin et al. 2002; Ahmad 2007; Brevault et al. 2008) due to the development of insecticide resistance in population. Even for transgenic cotton, studies show insecticide resistance on *H. armigera* populations (Brevault et al. 2012; Udamale et al. 2013). Consequently, there is a growing interest for integrated pest management (IPM) with alternatives control programs (Kogan 1998). IPM requires information on the biology of the pest and particularly on the origins of the first colonisers of the crops.

Many methods have been developed to determine the geographic and trophic origin of an insect causing crop damages. Direct methods include different techniques for field sampling such as mark-capture (Beall 1939; Menhinick 1964; Taylor 1984) or radar observations (Chapman et al. 2002, 2003; Kissling et al. 2013) whereas indirect methods comprise molecular analysis of insect population (Kranthi et al. 2005), analysis of pollen hanging from insect proboscis (Del Socorro et al. 2001; Silberbauer et al. 2004), insecticide resistance monitoring (Brevault et al. 2008; Feng et al. 2009), analysis of carbon stable isotope discrimination in insect wing tissues (Wassenaar and Hobson 1998; Gould et al. 2002; Brattstrom et al. 2008; Miller et al. 2011), analysis of proteins (cytochromes P450) produced as signature of trophic origin (Scott 1999, Yu and Gao 2005), and recently, analysis of secondary metabolites of host plants found in insect bodies (Orth et al. 2007; Head et al. 2010).

This last method developed by Orth et al. (2007) relies on the principle that hosts plants synthesize secondary metabolites such as alkaloids involved in their defense system against pests and that these molecules are sometimes not metabolized or excreted, but sequestered in the insect bodies. The chemicals ingested by larvae may be found in the adult as a signature of its previous larval diet. The Orth et al. (2007) method relies on the sequestration of alkaloid

(i.e. cotinine and gossypol), which are specific to a particular host plant on which a pest insect feeds.

In West Africa, cotton and tomato plants are considered as the most attacked plants by *H. armigera* (Tsafack et al, 2013). Cotton fields are mostly close to market gardens composed of tomato crops. *H. armigera* adults feed only on nectar, other sugar and moisture sources (Orth et al. 2007), and consequently, only larvae cause damages to the crops. Gould et al. 2002 proposed a method relied on the analysis of carbon stable isotopes to infer a cotton or tomato crops as a host plant in the field. However, both cotton and tomato use a C3 photosynthetic pathway (Sage and Zhu 2011; Brevault et al. 2012), and identifying a specific marker for each of these two plants is necessary to study a trophic origin of *H. armigera* population. By doing so, we can discern which host plant is most responsible for sustaining *H. armigera* population in an agricultural landscape. Among molecules synthesized by tomato plant, the alkaloid α -tomatine was tested as a potential biomarker of tomato plant and fruits (Friedman 2002, Tohge et al. 2014).

In this study, we aimed at i) testing the retention or sequestration of tomatine in larvae and adults *H.armigera*, and ii) studying whether the amounts of gossypol decreased or not with the age of the adult to avoid false negative due to the longevity of an individual.

IV-2-2 METHODS AND MATERIALS

Moths rearing Between May to June 2011, we reared *H. armigera* in the laboratory at Garoua, Cameroon with conditions of 12:12 dark and light, at 25°C. We sacrificed moths at different stages of their life cycle; larvae at instar L6 (6th instar) just before diapause (L6), adult day 0 (AD0), adult day 6 (AD6) and finally adult at day 12 (AD12) after the emergence from pupae. *H. armigera* larvae were reared individually on three food sources: cotton, tomato and maize. For cotton, young larvae were reared on cotton leaves (L1 to L3 respectively 1st and 3rd instars) and larvae from L3 to L6 reared on cotton bolls because gossypol is present on cotton leaves, squares and bolls (Smith 1967). For tomato, young larvae (L1 to L3) were reared on tomato leaves and larvae from L3 to L6 reared on immature tomatoes fruits as Friedman and Levin (1998) found that tomatine is most present on leaves and immature fruits of tomato plants. For maize, larvae were reared on maize flour. The maize-fed insect samples were used as a negative control for gossypol and tomatine analyses. For tomatine analyses, we tested a total of 129 moths from the three food sources with 40, 50

and 39 samples from cotton, tomato and maize, respectively (Tab. 10). For gossypol analyses, we examined a total of 73 moths with 40, 18, and 15 individuals from the three food sources above, respectively (Tab. 10).

Chemicals for Tomatine Analysis

Chemicals were obtained from the following sources: tomatine standard (EXTRASYNTHÈSE, n° of batch: 07111517); acetic acid (VWR); deionized water, chloroform, acetone, methanol and acetonitrile (Fisher).

Chemicals for Gossypol Analysis

Chemicals were obtained from the following sources: *d4*-Genistein (4-hydroxyphenyl-2, 3, 5, 6-*d4*, CDN ISOTOPES); Methanol (EMD); High Purity Solvent Water, Ammonium Hydroxide and Concentrated HCl (J.T. Baker); High Purity Solvent of Acetonitrile (Burdick & Jackson); Formic Acid, 98%, and Ethyl Acetate (VWR)

Equipment and analytical determination for tomatine

The 129 moths were steamed for three hours at 50°C to evaporate ethyl alcohol in an oven, before grinding in special tubes «lysing matrix C» with the FastPrep at speed 4 during 20sec, then homogenate with 5ml of ethanol/water (1:1). 250 µl of acetic acid were added for extraction, and the homogenate was thoroughly mixed during 2 hours. 2.5 ml of chloroform (three times) were added to recover the supernatant, then we added 2.5 ml of acetone (three times). The combined supernatant was allowed to dry for 24 hours at ambient temperature. Acetonitrile (5 ml) was added followed by a phase of sonication. Extracts were then kept in 1.5 ml vials for injection and analysis in LC-MS.

*LC-ESI-MS analysis of tomatine on *H. armigera* moths*

Samples were run on a Waters 2695 Alliance coupled with a quadrupole mass spectrometer ZQ (Water-Micromass, Manchester, UK) equipped with an electrospray ion source (ESI-MS). LC-ESI-MS spectra were recorded in the positive and negative ion mode. The capillary voltage was ± 3.5 kV and a cone voltage ranging from ± 20 to ± 100 V was used in order to determine which cone voltage gave the best signal. Data acquisition and processing were performed with MassLynx V4.0 software. Tomatine was better detected on a positive cone voltage of 70 V (since 70 V was found giving the best signal). LC-MS analyses

of the samples were conducted on a 250 mm × 4.6 mm, 5 µm, Prevail reverse-phase C18 column (Grace) using a linear binary gradient of H₂O (solvent A) and CH₃CN (solvent B) both containing 0.1% (v/v) formic acid, with a flow rate of 1 ml/min as follows: elution started with 50 % (B) and a gradient was used to obtain 60% (B) at 10 min, 100% (B) at 30 min, 50% (B) at 44 min and elution ends at 55 min with (B) at 50%. For the next injection, the column was equilibrated during 10 min. The injection volume was 20µl.

Equipment and analytical determination for a gossypol-derivative as a cotton biomarker

Seventy three insect samples were received in ethyl alcohol, which was evaporated in the fume hood for two days before samples were lyophilized. Individual samples were transferred into an extraction glass vial (Xpertek, 3.1 ml Hi Recovery Clear Glass Vial, 15 X 45 mm) with two glass beads (4 mm, VWR) and then ground for 2 min at 1100 rpm using a Mega-grinder. An acid hydrolysis solution (1 ml, 1N HCl in methanol) including an internal standard (*d*4-genistein) was added to the extraction vial and ground again. The new gossypol derivative was synthesized from gossypol during the acid hydrolysis process (manuscript in preparation). Because the new gossypol method also measures a soybean biomarker (manuscript in preparation) and no standard is available for the new gossypol-derivative, we used a genistein (a major soybean isoflavone) stable isotope, *d*4-genistein, as an internal standard. Vials were placed in a water bath at 55°C for about 15 hours, and after the acid hydrolysis, 69 µL of NH₄OH were added to the vial. Samples were completely dried using a SpeedVac (Thermo Scientific, Savant SC250EXP) and then 0.8 ml of 0.1% formic acid in H₂O followed by 1.5 ml of ethyl acetate were added. After shaking using the Mega-grinder for 2 min at 1100 rpm, each vial was centrifuged for 10 min at 3000 rpm and 1 ml of the ethyl acetate (top layer) was transferred into a 2-mL vial (Xpertek, 12x32 mm, Clear Glass Robotic Screw Thread Vial). After repeating the ethyl acetate extraction one more time, the supernatants were combined in the 2-mL vial and dried completely using the SpeedVac. The dried extract was reconstituted with 200 µl of 0.1% formic acid in methanol and then transferred into a 96-well membrane filter (AcroPrep Advance 96 Filter Plate, 0.45 µm PTFE, 350 µL well) for collecting filtrates prior to injection into an LC-MS.

LC-MS-MS analysis of a gossypol-derivative

A new gossypol-derivative was detected using LC-MS-MS (Shimadzu LC Pumps, LC10AD; Autosampler, LEAP PAL; Micromass Quattro Ultima). The linear LC gradient was

as follows: starting with 3% of the mobile phase B (0.005% formic acid in acetonitrile) and 97% of the mobile phase A (0.005% formic acid in water), at 1 min with 25% of B, at 2 min with 40% B, at 2.5 min with 70% B, at 3.9 min with 80% B, at 4 min with 95% B, ending at 4.2 min with 95% B. To reduce potential cross-contamination between samples, a blank injection (methanol) was carried out after an insect sample injection with the following LC condition: at 0 min with 95% B, at 0.5 min with 95% B, at 0.6 min with 3% B, ending at 1.5 min with 3% B. The column was Gemini C18 (3µm, 110 Å, 50 x 2.00 mm, Phenomenex) with the flow rate of 0.5 ml/min. The triple quadruple mass spectrometer was run in a MRM mode according to the acquisition parameters presented in Tab. 11.

Tableau 10. Results for tomatine and gossypol analyses.

Host food and insect life stage	Tomatine	Gossypol
Larvae		
Cotton	0% (n=10)*	100% (n=10)
Tomato	100% (n=20)	0% (n=5)
Maize	0% (n=10)	0% (n=5)
AD0		
Cotton	0% (n=10)	100% (n=0)
Tomato	0% (n=10)	0% (n=5)
Maize	0% (n=9)	0% (n=5)
AD6		
Cotton	0% (n=10)	100% (n=10)
Tomato	0% (n=10)	0% (n=5)
Maize	0% (n=10)	0% (n=5)
AD12		
Cotton	0% (n=10)	100% (n=10)
Tomato	0% (n=10)	0% (n=3)
Maize	0% (n=10)	(n=0)

In bracket is the total number tested for each cell of the table.

Tableau 11. The triple quadruple mass spectrometer was run in a MRM mode with the following acquisition parameters

Compound	Precursor/Product	Dwell sec	Collision Energy eV	Cone V	Approx. Retention time, min
D4-genistein	272.9/136.9	0.6	35	50	2.6
Gossypol-derivatives	517.04/470.0	0.6	35	50	3.9

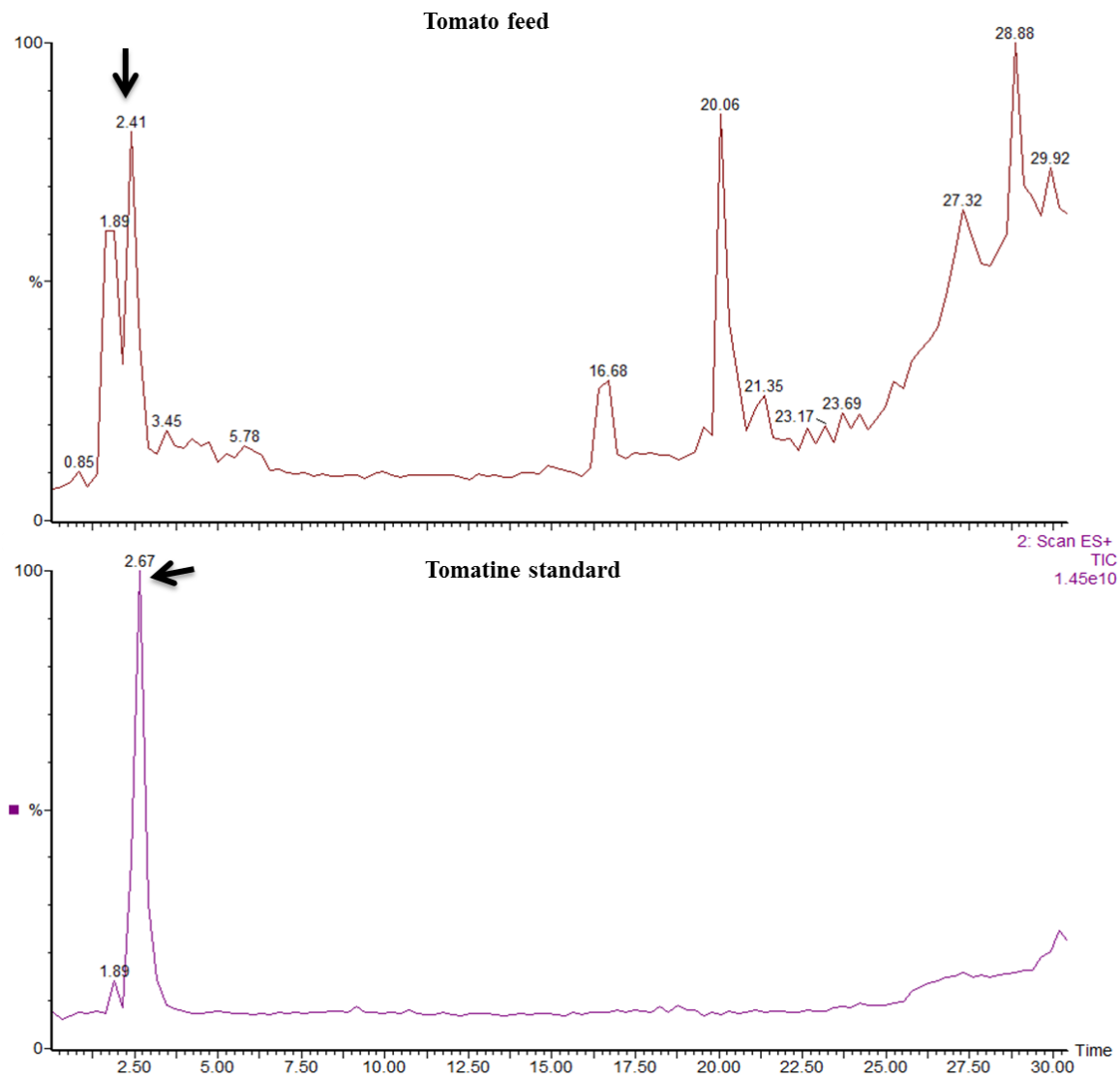


Figure 38. Chromatograms for a) an *H. armigera* reared on tomato and b) standard. Black arrows indicate the retention time of tomatine.

IV-2-3 RESULTS

Analytical aspects, identification and characterization of tomatine by LC-MS.

The results of a qualitative tomatine analysis by LV-MS in larvae and moths of *H. armigera* are documented in Tab. 10. The method for the identification of the tomatine has shown to be selective, robust, and fast. The retention time of for detecting tomatine in *H. armigera* larvae was 2.4 min. Structural identification of our compound in extracts was performed by mass spectrum. The LC/MS mass chromatograms (Fig. 38) demonstrate the presence of tomatine in the larvae extracts but not in adults samples.

With the method developed, all larvae (20) analysed were positive to tomatine. None of the adults analysed were positive. Adults of all ages were negative to tomatine (Tab. 10). The control group, represented in this study by, individuals reared on the artificial diet based on maize was negative to tomatine. This suggests that there was no contamination between the different extract in the columns.

Analytical aspects, identification and characterization of gossypol.

The results of a qualitative gossypol analysis by LC-MS-MS in larvae and moths of *H. armigera* are documented in tableau 10. The retention time of for detecting gossypol in *H. armigera* larvae and adults was 3.9 min (Tab. 11). Gossypol was detected in larvae and adults of cotton-group at all development stage. These results indicate that gossypol in moths' body lasted for at least 12 days after emergence of the pupa (Tab. 11).

IV-2-4 DISCUSSION

In this study, we developed a method to analyse tomatine, an alkaloid compound present in tomato plants. Analyses showed a tomatine signal in leaves of tomato plants (positive control) whereas in all negative controls (*H. armigera* individuals reared on non-tomato diets) tomatine was not detected. These results demonstrated that the method developed for tomatine determination is reliable, accurate and fulfilled the conditions of repeatability. Although this method is based on a strict signal presence/absence of tomatine, we did not find any false-positives among the negative control individuals (40 and 39 moths reared on cotton and maize, respectively). The results for tomatine analyses on larvae indicate

that tomatine is present in *H. armigera* larvae which fed on tomato. On the other hand, a tomatine signal was not detected in *H. armigera* adults reared on tomato crops as none of the newly-emerged to 12-day-old *H. armigera* adults ($n = 30$) from larvae fed on tomato was found positive for tomatine. This result suggests that tomatine is not transferred from a larva to adult of *H. armigera*.

Even if tomatine is a specific alkaloid of tomato, our study showed that it was not a reliable biochemical marker in an adult moth to determine the host plant during the larval stage. Similar results were obtained for another noctuidae pest, *Sporoptera litoralis* (Ferrerres et al. 2011). Tomatine and its derivatives (dehydrotomatine and tomatidine) were found in tomato leaves, larvae and excrements of *S. litoralis*, but not in adults (Ferrerres et al. 2011). As reported in another *Spodoptera* species (*Spodoptera frugiperda*) (Marana et al. 2000), maybe *S. littoralis* synthesized β -glucosidases that promote deglycosylation of tomatine. Although tomatine is synthesized by plants for defense against pests, studies showed that certain insect pests such as *H. zea* or *H. armigera* (as in this study) may form complexes with tomatine for their own defense system against parasitoids (Bloem et al. 1989; Campbell and Duffey 1981). In other insect species, when tomatine is not assimilated, an insect cannot tolerate the toxicity of tomatine (e.g. *Helicoverpa assulta*, Junfeng et al. 2002), and the development is then stopped.

Tomato pest like *H. armigera* may develop a system that metabolizes and/or detoxifies tomatine. Arneson and Durbin (1968) found that tomatine may be degraded by glucosidase. The results of the study of Mainguet et al. (2000) going in the same direction. They detected a myrosinase activity in the midgut of desert locusts (*Schistocerca gregaria*) when feeding on schouwia, plants rich in thioglucosides. They concluded that, induction of specific enzymes is a potential adaptation to the glucosides to prevent noxious effects of thioglucosides in schouwia. *H. armigera* may synthesized those enzymes which break up the parent molecule of tomatine making it less toxic and then acceptable for viability and development of the pest. In fact, it has been reported that *H. armigera* larvae synthesized enzymes as serine protease when feeding soybean (Bown et al 1997). Another hypothesis is that the peritrophic membrane surrounding the food bolus of herbivorous insects may act as a protective ultrafilter membrane (Barbehenn 2001) against plant allelochemicals.

Our results raise the question of presence of potential tomatine metabolites on *H. armigera* adults that may be used as marker of adults which fed on tomatoes during the larvae stage. Further analyses may lead on that way, to search for potential metabolite residues in adults.

They may then be used as a tool to track the use of tomato crops in fields and finally understand more on local movement of *H. armigera*.

To confirm the stability of a cotton biomarker in adult moths, we analysed adults of *H. armigera* at different ages, and a positive signal of a gossypol-derivative was detected in adults even 12 days after emergence. Our study demonstrated that the new gossypol-derivative in an adult moth is an additional biomarker to determine a cotton plant as a larval host as shown in Orth et al (2007).

IV-2-5 CONCLUSION

Studies of trophic origins of insect's pest require reliable tools to effectively rely the use of host plants in the fields. This is even more significant for polyphagous pest such as *H. armigera*. Our studies confirmed results for gossypol as biomarker for cotton use in field populations. Gossypol is found on cotton-reared moths even on 12 days old moths. Tomatine can not be used as biomarker for tomato use in fields. Our results suggest that the parent molecule, tomatine is found on *H. armigera* larvae but not on adults. Tomatine is metabolized by *H. armigera*. Further analyses should be lead on that way, to search for potential metabolites residues of tomatine on adults.

ACKNOWLEDGEMENTS

The project was funded by FSP Cotton (French Ministry of Foreign Affairs and CIRAD). We thank John Rogers who provided helpful comments on the earlier version of this article, Laboratory team of the laboratory of Garoua (Cameroon) for rearing moths, facilities offered by laboratories of Amiens (France) and of Monsanto at St-Louis (USA).

IV-3 Synthèse de l'étude: Étude des effets de la composition et de l'hétérogénéité du paysage sur l'abondance et l'origine trophique des adultes d'*Helicoverpa armigera*.

La protection intégrée des ravageurs repose sur des techniques économes en pesticides. Plusieurs études ont montré que le paysage autour d'une parcelle avait un effet sur l'abondance des ennemis naturels (Tscharntke 2000) ou des ravageurs (Roschewitz et al. 2005). Il est de ce fait important d'intégrer le paysage pour gérer l'abondance des ravageurs dans une parcelle de culture. Nous avons étudié les effets de la composition (à travers la proportion des différentes plantes hôtes majoritaires) et de l'hétérogénéité du paysage (indice de diversité de Shannon) sur l'abondance et l'origine trophique des adultes d'*H. armigera*. *H. armigera* est un ravageur qui peut se déplacer sur de longues distances de l'ordre du millier de kilomètres (Feng et al. 2009) ou sur de petites distances lorsque les conditions sont favorables comme c'est le cas dans les zones tropicales. Pour comprendre les déplacements de routine peu connues pour ce ravageur et l'utilisation de la ressource dans un paysage agricole nous avons considéré la composition et l'hétérogénéité du paysage à trois échelles 100 m, 250 m et 500 m. Nous avons sélectionné 37 parcelles (17 en 2011 et 20 en 2012) où nous avons réalisé des piégeages lumineux afin de capturer des adultes d'*H. armigera*. Les parcelles ont été sélectionnées selon un gradient de diversité paysager suivant quatre critères exclusifs : $\geq 50\%$ de cotonnier, $\geq 50\%$ de maïs, $\geq 50\%$ de végétation naturelle et la présence de parcelles de tomates tout autour (Fig. 12). Afin de déterminer l'origine trophique des individus piégés (C3 ou C4), nous avons analysé la composition d'isotopes stables de carbone sur les ailes. Nous avons ensuite analysé le signal gossypol sur les individus qui avaient une signature C3 afin de déterminer la proportion d'individus qui avaient passé leur vie larvaire sur le coton. La démarche statistique adoptée ici est une régression linéaire généralisée des moindres carrés partiels (PlsGLM).

Les résultats montrent que l'échelle de 500 m est celle qui explique le mieux l'abondance et l'origine trophique d'*H. armigera* dans le paysage. L'étude a aussi montré que l'hétérogénéité du paysage était la variable clé qui expliquait le mieux l'abondance et l'origine trophique d'*H. armigera* dans le paysage. L'effet des plantes hôtes (cotonnier, tomate, maïs ou sorgho) est

moindre et varie en fonction de l'échelle paysagère et de l'année considérées. Contrairement à ce qui était attendu, nous n'avons pas observé d'effet de la végétation naturelle ni sur l'abondance ni sur l'origine trophique d'*H. armigera*. Cette étude suggère que c'est davantage la diversité en plantes hôtes à une échelle de 500 m qui favorise l'abondance d'*H. armigera* que les plantes hôtes individuellement. La gestion du ravageur *H. armigera* devrait donc être considérée non seulement à l'échelle de la parcelle mais aussi en intégrant le paysage.

IV-4 Does landscape composition drive the abundance and host use of the polyphagous pest *Helicoverpa armigera* in cotton-producing landscape in North Benin?

*Noelline Tsafack¹, Audrey Alignier², Jae Hak Kim³, Graham Head³, Michel Goulard⁴,
Philippe Menozzi⁵, Annie Ouin¹

¹INP-ENSAT, UMR DYNAFOR, Avenue de l'Agrobiopole, BP 32607 Auzeville, 31326
Castanet-Tolosan Cedex, France

^{*}Corresponding author mail address: noelline.tsafackmenessong@ensat.fr Tel: +33 (0)6 52 34 38 50 Fax: +33 (0)5 34 32 39 01

²INRA, UMR SAD-PAYSAGE, 65, rue de St-Brieuc CS 84215 35042 Rennes Cedex - France

³MONSANTO LLC, 800 North Lindbergh Blvd, St. Louis, MO 63167 USA

⁴INRA, UMR DYNAFOR, chemin de borde rouge, Bp 52627, F- 31320 Castanet Tolosan Cedex France

⁵CIRAD, Dpt PERSYST, UPR 102 AIDA - 08 BP 841, Cotonou, BENIN

Abstract: Sustainable agriculture needs to develop alternative pest strategies management. Many studies argue that landscape diversity, enhancing natural enemies, could support biological control. However, results of landscape studies on pest infestations are ambivalent. For polyphagous pest, landscape diversity in host plants can offer successive resources which may enhance pest. The aim of our study was to determine how landscape composition and landscape diversity in crop host plants influence both abundance and trophic origin of a polyphagous pest *Helicoverpa armigera* in northern Benin. Over a two-year field study, we trapped *H. armigera* in 37 cotton fields using light traps. We determined trophic origin of moths according to the photosynthetic pathway (C3 or C4) of host plant by analyses of stable carbon isotope ratios. We also determined the cotton use by moths in the fields with gossypol residues analyses. We tested for relationships between abundance of *H. armigera* and landscape variables (proportion of each crop host plant and natural vegetation, landscape diversity in crop host plants) at three spatial scales (100 m, 250 m and 500 m) using GLM-PLS models. We found that landscape diversity of crop host plants at 500 m, more than crop host plants proportions, was the key factor to explain both abundance and trophic origin of *H. armigera* in the cotton fields. Results of gossypol analysis showed that the proportion of cotton in the landscape had a weak effect to explain trophic origin of *H. armigera*. Our results suggest that integrated pest management should take into account the landscape context of fields and the time-sequential availability of host plants over the growing season to reduce *H. armigera* infestation.

Key words: *Helicoverpa armigera* –landscape diversity in crop host plant – trophic origin - cotton – gossypol- GLM-PLS.

IV-4-1- Introduction

To develop strategies independent of pesticides is of fundamental importance for a sustainable agriculture. Indeed, chemical control can be costly both for farmers and society, particularly in terms of negative effects on beneficial organisms, e.g. natural enemies. Thus, there is a growing interest in alternative ways of controlling pests in crop fields. Many studies argue that landscape variables such as habitat diversity, quality, and patchiness as well as an organism's dispersal capability all impact the ability of a landscape to enhance biodiversity (Tscharntke, Klein, Kruess, Steffan-Dewenter, & Thies 2005; Gardiner, Landis, Gratton, Difonzo & O'Neal et al. 2009) and support biological control in agroecosystems (Thies, Steffan-Dewenter, & Tscharntke 2003). Landscape diversity has been shown to enhance natural enemies' populations (Bianchi, Booij, & Tscharntke 2006) with a positive feedback on pest regulation (Chaplin-Kramer, O'Rourke, Blitzer, & Kremen 2011). However, others studies found an ambivalent role of landscape diversity. As example, Roschewitz, Hücker, Tscharntke, and Thies (2005) showed that landscape diversity enhances not only aphid parasitism at large scale but also aphid populations. Rusch et al. (2012) found a positive effect of landscape diversity both on pollen beetle abundance and parasitism rates by its natural enemies. For polyphagous pest, landscape diversity in host plants can offer successive resources which may enhance pest (Lu & Baker 2013) but also decrease pest density in fields of a specific crop (Carriere, Goodell, Ellers-Kirk, Larocque & Dutilleul et al. 2012). Considering the ambivalent role of the landscape, we lack a general understanding of how landscape composition and diversity influence pest infestation.

In this study, we focused on the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *H. armigera* is a polyphagous pest that causes yield losses to several crops worldwide (Lu & Baker 2013). Manjunath et al. (1989) recorded about 180 cultivated and uncultivated plants species that have been attacked by *H. armigera* including cotton, cereals such as maize and sorghum (Sharma 1985; Fefelova & Frolov 2008), vegetables crops including tomato, soybean, and okra (Johnston, Gatehouse, Anstee 1993; Naseri, Fathipour, Moharramipour, & Hosseiniaveh 2009; Walker, Herman, Kale, & Wallace 2010; Udamale, Moharil, Ugale, & Mankar 2013), and weeds plants as *Cleome viscosa* (Marcos & Rejesus 1992; Nibouche 1994). The arrangement of crops and natural vegetation across the landscape was proposed as a potential alternative or at least as a complement to reduce insecticide treatments and achieve pest biocontrol (Landis, Wratten, & Gurr 2000; Prasifka, Heinz, & Minzenmayer 2004). To implement this strategy requires

knowledge not only on the habitat or host plant use that are beneficial to the pest and/or its predators but also on the scale at which benefits are realized (Prasifka, Heinz, & Minzenmayer 2004). The pest management strategy will be then based on the best scale at which pest respond. However, for polyphagous and facultative migrant pest as *H. armigera* this objective is not easy to achieve. The migratory behaviour of *H. armigera* is supposed to be very punctual in time. It responds to physiological and ecological processes different from the one acting during its “day to day” life in “favourable” landscapes. Therefore, *H. armigera* is considered as a facultative migrant species, with local smaller scale movements (Ramaswamy 1988) but able to travel long distances up to 160 km (Fitt 1989). Here, we focus on spatial scales where the management can be driven through agricultural practices i.e. 500 m maximum around fields. By this way, we did not consider the migrating behaviour of moths. In addition, landscape composition may encompass a large proportion of host plants of *H. armigera*. Nibouche (1994) stated that cotton in West Africa is the preferred host plant of *H. armigera*. Head et al. (2010) showed that *H. armigera* switch from C3 host plants in early summer to C4 host plant in late summer by analysing stable carbon isotope ratios and gossypol residues.

In this study, we investigated the effect of landscape composition and diversity in crop host plants on the abundance and trophic origin of *H. armigera* in North Benin, West Africa. First, according to the resource concentration hypothesis (Root 1973), we expect that a large proportion of host plants in the landscape and in particular, a large proportion of cotton, increase the abundance of *H. armigera* in fields. In another way, we hypothesize that *H. armigera* abundance will be higher in landscape with more diversity of host plants. Second, considering the trophic origin (larval diet) of *H. armigera* adults, we hypothesize that the more there would be host plant with C3 photosynthetic pathway (C4 respectively) in the landscape, the more we would find *H. armigera* showing C3 trophic origin (C4 respectively). In relation with this statement, we expect that in landscapes where there is more cotton in proportion relative to other crops, the more *H. armigera* showing gossypol signature (referring to cotton trophic origin) would be abundant. To test these hypotheses, we trapped *H. armigera* moths in 37 cotton fields in northern Benin. Two methods were used to determine their trophic origin. Stable carbon isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) analyses of moth wings (Gould et al, 2002) and gossypol residue analyses of moth bodies (Orth, Head & Mierkowski 2007) were used respectively to estimate the proportion of *H. armigera* that fed on C3 or C4 plants as natal host plants and cotton used in the landscape.

IV-4-2 Materials and methods

IV-4-2-1 Study site

The study was carried out near the town of Angaradébou (11°29'-3°20'N) in northern Benin, West Africa (Fig. 11). Northern Benin is one of the most productive cotton areas in West Africa (EIU 2008). This region is also one of the most infested by *H. armigera* (Cauquil & Vaissayre 2000; Martin, Ochou, Djihito, Traore & Togola et al. 2005) with damage levels of up to 50% of the cotton yield. The region is characterized by a tropical semi-arid and dry southern Sahel climate, consisting of a dry season lasting 8 months (from October to mid-May) and a rainy season (from the end of May to early October). The agricultural system is based on smallholders farming (0.25-2 ha) of staple crops (maize, millet, sorghum, soybean, cowpea, nuts) and larger cotton farms (5-10 ha). During the dry season, vegetable crops are cultivated near wetlands and permanent rivers, and the overall cropped area declines by about 80% compared to the rainy season. Cotton is sown between end of May and middle July during the rainy season and harvested from November to December. The main hosts' plants of *H. armigera* present in the study area are cotton, tomato, maize, and sorghum.

IV-4-2-2 Landscape selection and analysis

We selected 37 cotton fields over 2 years (17 in 2011 and 20 in 2012). Due to crop rotations, fields were not the same between the two years. The cotton fields were selected according to gradient of landscape diversity based upon the proportion of host crop plants (cotton, tomato, maize, sorghum) and semi-natural vegetation. Landcover was recorded in a 500 m radius buffer and integrated in a GIS using ArcGiS 10 geographical information system (ESRI France, 2011). The choice of a 500 m radius was a trade-off between the mean cotton field size (1ha, i.e. around 100 metres side) and our landcover recording capacity in the field. The total study area was approximately 200 km² in 2011 and 1000 km² in 2012. To investigate how local landscape influence the abundance of *H. armigera* and its trophic origin, we focused on at three nested buffer sizes of radius of 100 m, 250 m and 500 m centered on each selected cotton field (Fig. 39). For each buffer size, we extracted the proportion of cotton, tomato, maize, sorghum, natural vegetation, the proportion of C₃ crop host plants; C₄ crop host plants (Tab. 12). Landscape diversity in *H. armigera* host plant was calculated according to the Shannon diversity index $H [H = -\sum P_i \log P_i]$ where P_i is the proportion of a crop host plants type considered in the i th host plant category (cotton, tomato, maize, sorghum) (Shannon 1948)] (Tab. 12). The higher the H-value, the more diverse in *H. armigera* host plants the landscape was.

Tableau 12. Landscapes variables and their recorded ranges (in brackets) for the 37 cotton fields, at the three spatial scales (100, 250 and 500 m).

Code	Unit	Variables		Buffer 100 m		Buffer 250 m		Buffer 500 m	
				mean	[Min-Max]	mean	[Min-Max]	mean	[Min-Max]
Co	%	Proportion of cotton		61	[11-100]	34	[6-70]	26	[4-58]
To	%	Proportion of tomato		1	[0-27]	1	[0-9]	1	[0-7]
Ma	%	Proportion of maize		16	[0-64]	24	[1-63]	24.67	[3-55]
So	%	Proportion of sorghum		2	[0-23]	4	[0-22]	5	[0-18]
NV	%	Proportion of natural vegetation		8	[0-45]	18	[0-52]	27	[5-56]
Others	%	Proportion of others crops		5	[0-33]	12	[0-54]	14	[0-39]
H	-	Shannon index	diversity	0.5	[0.0-1.2]	0.85	[0.4-1.4]	0.75	[0.5-1.1]
C3	%	Proportion of C3 host plants		63	[11-100]	35	[6-70]	26.42	[4-58]
C4	%	Proportion of C4 host plants		18	[0-64]	28	[4-65]	30.8	[10-62]

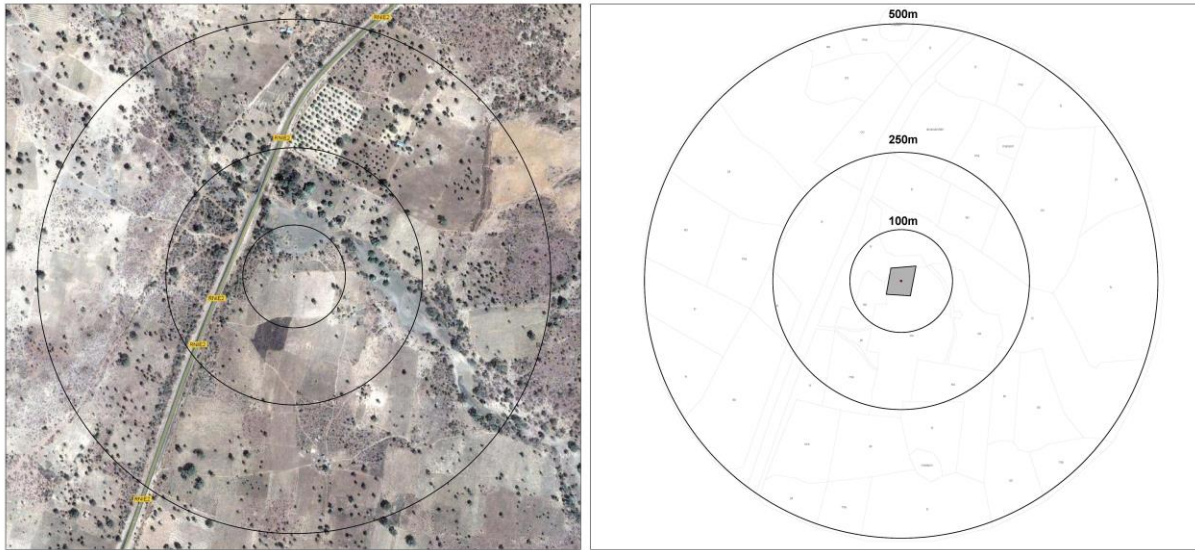


Figure 39. The three nested buffer sizes of radius of 100 m, 250 m and 500 m centered on each selected cotton field.

IV-4-2-3 Abundance of *Helicoverpa armigera* by light trapping

H. armigera abundance was monitored using light traps (mercury vapor lamps), three poles and a white sheet where insects alight attracted by light. Light traps were installed during September and November which correspond to the peak of infestation in the study area. We installed light traps during 2h from the sunset (6h30 PM to 08h30PM) in the cotton field edges to avoid damaging crop and for technical facility purposes (car battery sometimes needed). This time period corresponds to the peak of *H. armigera* activity (Roome 1975; Riley, Armes, Reynolds & Smith 1992; Topper 1987). With this trapping design, we tag principally the local population located in cotton field and their surroundings. For control, we installed light trap in a site without cultivated fields, in the National Park, which is located at the border between Nord of Benin, Burkina-Faso and Niger. In 2011, light traps were installed twice for each of the 17 fields. In 2012 light traps were installed six times for each of the 20 fields. All individuals *H. armigera* were conserved in alcohol for bio-chemical analyses.

IV-4-2-4 Trophic origin of *Helicoverpa armigera*

Determining the C3 or C4 host plant use by H. armigera

Stable isotopes of carbon can be used to track trophic origin, discriminating individuals having fed on C3 versus C4 plants (Brevault, Achaleke, Sougnabe, & Vaissayre 2008; Head, Jackson, Adamczyk, Bradley, Van Duyn et al. 2010; Baker & Tann 2013). Indeed, host plants of different photosynthetic pathway (C3 plants, C4 plants) leave an isotopic signature specific of the plants - on which the larvae fed on - in inert tissues (wings, chitin) of the adult insect (Gould, Blair, Reid, Rennie, Lopez et al. 2002). The method involves analyzing the ratio of carbon isotopes (δC) C12 and C13 ($\delta^{12}C/\delta^{13}C$).

For this study, we analyzed the wings of *H. armigera* trapped in the different landscape contexts. We then separated individuals in two groups: the "C3-group" with $\delta^{13}C$ value of -20‰ or less represents individuals which fed at larval stage on C3 plants (plant utilizing the C3 photosynthetic pathway, here cotton and tomato) and the "C4-group" with $\delta^{13}C$ value of -15‰ or above represents individuals which fed on C4 plants (plant utilizing the C4 photosynthetic pathway, in this study mainly maize and sorghum) as described by Gould et al. (2002).

Determining cotton use by H. armigera: Gossypol analysis

To determine the use of cotton as host plant, we analysed gossypol residues in moth extract using method described by Head et al. (2010). Cotton presents a C3 photosynthetic pathway, thus we analysed gossypol only on the C3-group. A total of 1079 (183 trapped in 2011 and 896 trapped in 2012) individual gossypol analyses were run.

IV-4-2-5 Statistical Analyses

We checked for no spatial autocorrelation in landscape variables with Moran's correlogramms (Fortin & Dale 2005). Because agricultural landscapes are not organized randomly, landscape analyses are often confronted to the correlation between variables. We used partial least squares (PLS) approach to investigate the influence of the landscape context on i) the abundance of *H. armigera* moths; ii) the proportion of moths from the C₃ and the C₄ groups and iii) the proportion of moths which larvae fed on cotton (the gossypol group), at the three spatial scales (buffer size of 100, 250 and 500 m). We choose the PLS approach because

PLS relaxes is made to take into account of the collinearity among explicative variables. PLS also properly manage data analysis where the number of predictor variables is higher than the number of observations (Tenenhaus 1998).

The responses variables fall within the generalized linear model (GLM) thus we used a PLS approach on generalized linear model (Bastien, Esposito Vinzi, & Tenenhaus 2005). Because this approach has not been often used we also used another approach which consisted in variable transformation with the help of the link function of the GLM (log for count and logit for proportions). We also computed VIP (Variable Importance in the Projection) values for each predictor's variables at each buffer size. VIP values quantify the influence of each variable on the ability to explain the variation in the responses variables. Variables with $VIP \geq 1$ are considered the most significant for the prediction of the response variable (Tenenhaus 1998).

All statistical analyses were carried out using the free statistical software R 2.15.2 (R Core Team 2013) with the package "plsRglm" (Bastien, Esposito Vinzi, & Tenenhaus 2005) for the PLS on GLM. We modified the code of the function because it accepts only 0-1 values in the case of binomial family where we had number of successes and number of fails. We also made a code to compute VIP values for the GLM-PLS procedure.

IV-4-3 Results

Overall, 277 *H. armigera* moths in 2011 and 1352 in 2012 were trapped. Because *H. armigera* was much more abundant in 2012 than in 2011 (Fig. 40), the two years were treated separately in further results. We did not find any spatial autocorrelation between landscape variables with Moran's correlograms.

IV-4-3-1 Abundance of *H. armigera*

The whole GLM-PLS model explained 65% of the variance of the abundance of moths (Tab. 13). According to VIP, the influence of landscape variables on abundance of *H. armigera* varied according to spatial scales and year (Fig. 41; Tab. 13).

For both years, more the spatial scale increased and more variables became important ($VIP > 1$). In 2011, at the 500 m buffer size, the proportion of sorghum and the Shannon diversity index in crop host plants (H) were both important and shared positive relationship with *H. armigera* abundance (Fig. 41; Appendix A). In 2012, among the seven variables included in the GLM-PLS, five variables were relevant at 500 m to explain *H. armigera* abundance: the proportion of tomato, sorghum, natural vegetation, other landscape covers and H. All these variables were positively correlated to the abundance of *H. armigera* (Fig. 41; Appendix A).

Tableau 13. AIC, null deviance, residual deviance and R-squared (%) for each of the 4 GLM-PLS models performed.

	Abundance	C ₃ -group	C ₄ -group	gossypol
AIC	489.9	137.1	136.8	128.8
Null deviance	1360	82.61	82.61	106
Residual deviance	301.1	31.45	31.14	29.03
R-squared	64.53	61.93	64.86	72.61

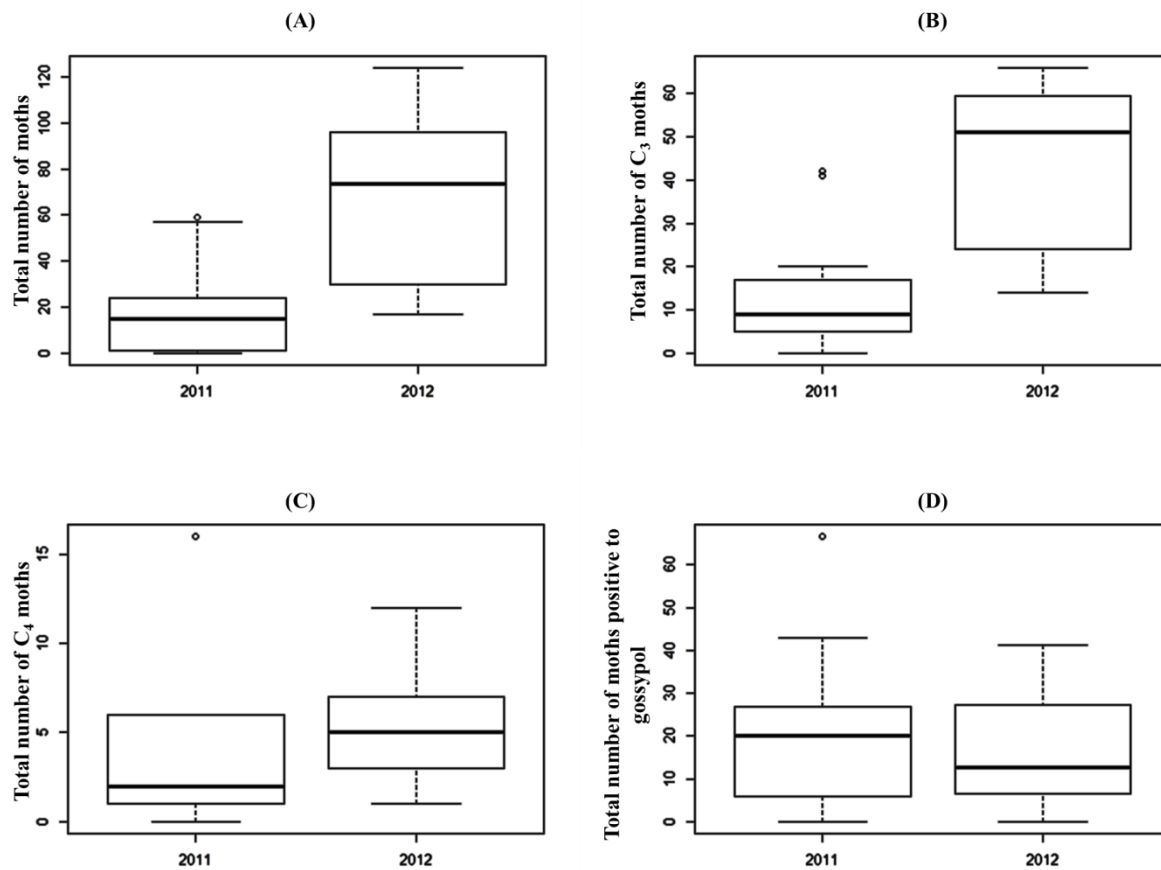


Figure 40. Total number of A) *H. armigera* moths trapped, B) C_3 -moths trapped, C) C_4 -moths trapped, D) moths positive to gossypol in 2011 and 2012.

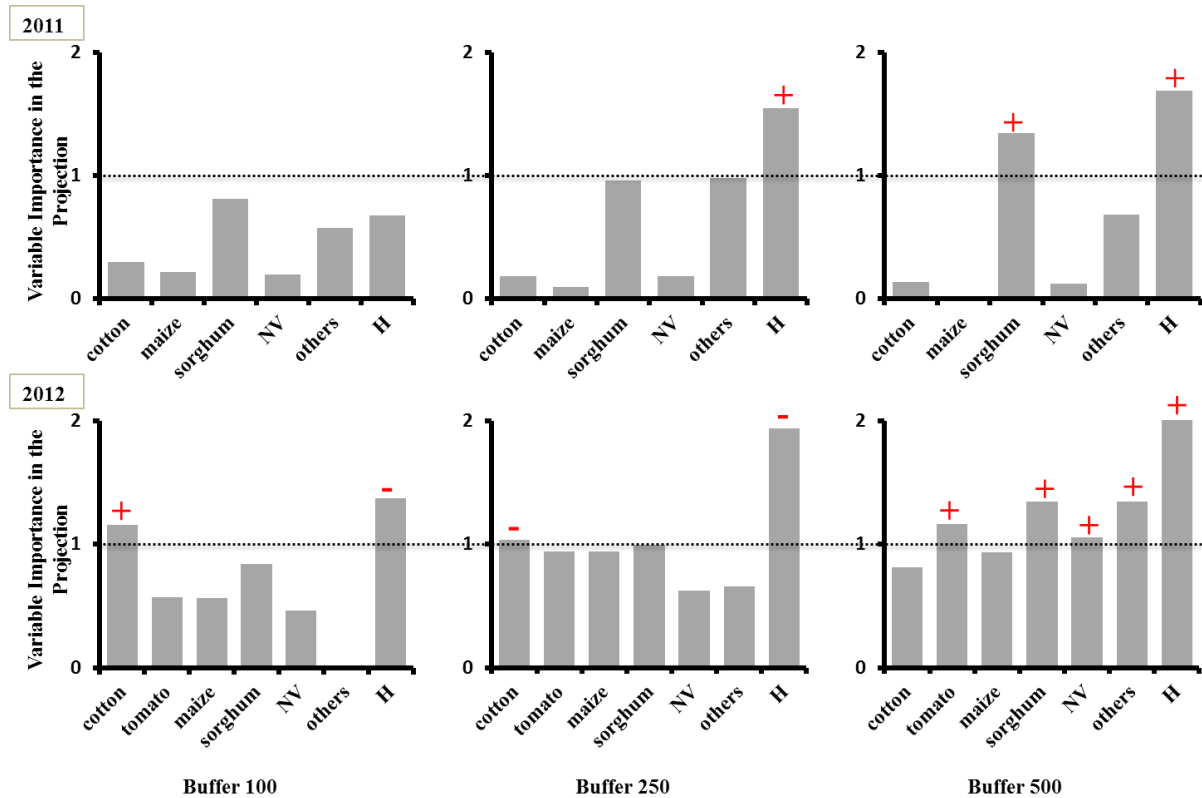


Figure 41. Variable Importance in Projection (VIP) of the landscape variables investigated to predict abundance of *H. armigera*. VIP values were extracted from GLM-PLS performed at the three nested spatial scales (buffers 100 m, 250m and 500m) for the two years (2011 and 2012). Variables above the black line ($VIP \geq 1$) are defined as the most important to predict the abundance of *H. armigera*. The signs (+) or (-) above represent the sign of the relationship (see Appendix A for exact values). Refer to Tab. 12 for the complete name of variables.

IV-4-3-2 C3 and C4 plant use of *Helicoverpa armigera*

Among individuals trapped in 2011, we analysed 240 moths for trophic origin. We found that 76% (182 moths) with C3 trophic origin and 24% (58 moths) with C4 trophic origin. Some individuals which were not assignable to one group or another were not used in the rest of analyses (Appendix B). Among individuals trapped in 2012, we analysed 1009 moths and found that 87% (878 moths) of moths with C3 trophic origin, and 13% (111 moths) with C4 trophic origin.

GLM-PLS used to explain the proportion of moths with C3 trophic origin (C4 respectively) explained 62% (65% respectively) (Tab. 13). H was the most relevant variable whatever the buffer size and the year, except in 2011 at the 100 m and 500 m buffers. At the 500 m buffer, for 2011 and 2012, H was negatively correlated to the proportion of *H. armigera* with C₃ trophic origin. At the 250m buffer, the relation of H with the C₃-group abundance was positive in 2012 (Fig. 42, Appendix C). On the contrary, the C₄-group abundance was positively related to H at buffer 100 m and 250m in 2011 and negatively correlated for both buffers in 2012 (Fig. 42, Appendix D).

The proportion of C₃ host plant in the landscape was also a relevant variable to explain the proportion of individuals showing a C₃ trophic origin but only in 2012, not in 2011. The relation with C₃-group abundance was positive (Fig. 42A). The proportion of C₄ host plant in the landscape was a relevant variable to explain the proportion of individuals showing a C₄ trophic origin whatever the year and the buffer size except at the 100 m buffer. The relation with C₄-group abundance was positive (respectively negative) at 500m buffer (respectively 250m) for both years (Fig. 42B). The proportions of natural vegetation and others crops were never considered as important (VIP<1) whatever the year of study.

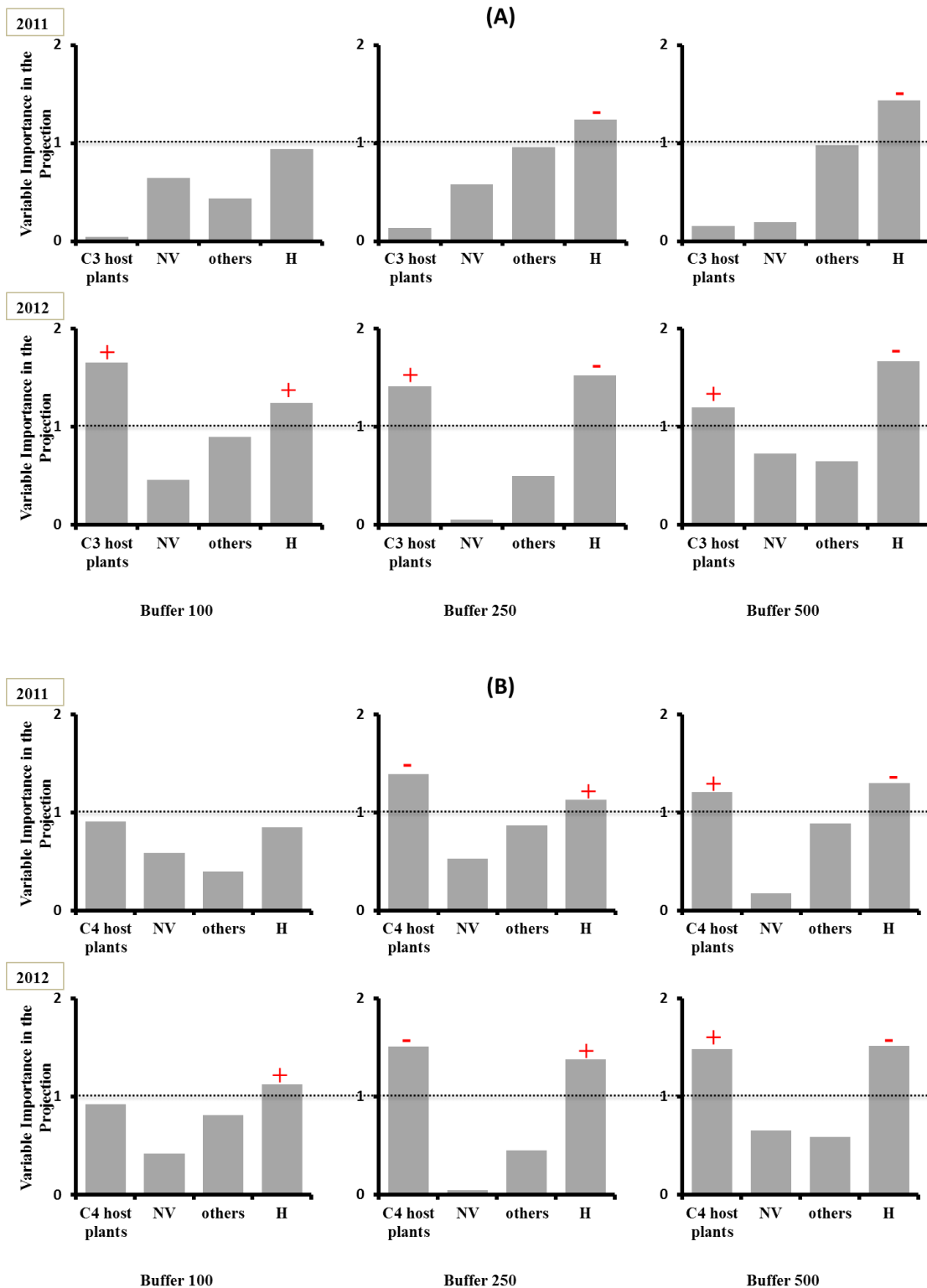


Figure 42. Variable Importance in Projection (VIP) of the landscape variables investigated to predict the proportion of *H. armigera* with (A) C3 trophic origin and (B) C4 trophic origin, at the three nested spatial scales (buffers 100 m, 250m and 500m) for the two years (2011 and 2012). Variables above the black line ($VIP \geq 1$) are defined as the most important to predict the abundance of *H. armigera*. The signs (+) or (-) above represent the sign of the relation with the response variable (see Appendix C and D for exact values). Refer to Tab. 12 for the complete name of variables.

IV-4-3-3 Cotton use of *Helicoverpa armigera* using Gossypol analysis

From the moths showing C₃ trophic origin, 20 % of moths (N=36 moths) were found positive to gossypol in 2011 and 13% (N=113 moths) in 2012 (Fig. 43). GLM-PLS used to explain the proportion of moths positive to gossypol explains 73% of the variance (Tab. 13).

Landscape diversity in host plant (H) was the most relevant variable whatever the buffer size and the year. The proportion of individuals showing a positive signal to gossypol was positively linked to H at buffer 250 m but negatively at buffer at 500 m both in 2011 and 2012 (Fig. 43, Appendix E). At buffer 100 m, H was positively linked to the proportion of individuals showing a positive signal to gossypol in 2012 but the relationship was negative in 2011. The proportion of sorghum in the landscape is also a relevant variable to explain the proportion of individuals positive to gossypol. Except at buffer 250 m (in 2011 and 2012), the proportion of sorghum in the landscape was always negatively correlated to the proportion of individuals positive to gossypol (Fig. 43, Appendix E). The proportion of tomato was positively correlated to the abundance of moths with gossypol signature at buffer 250 m and 500 m. The proportion of natural vegetation was important only at buffer 500m. The proportion of natural vegetation was negatively linked to the proportion of individuals showing a positive signal to gossypol.

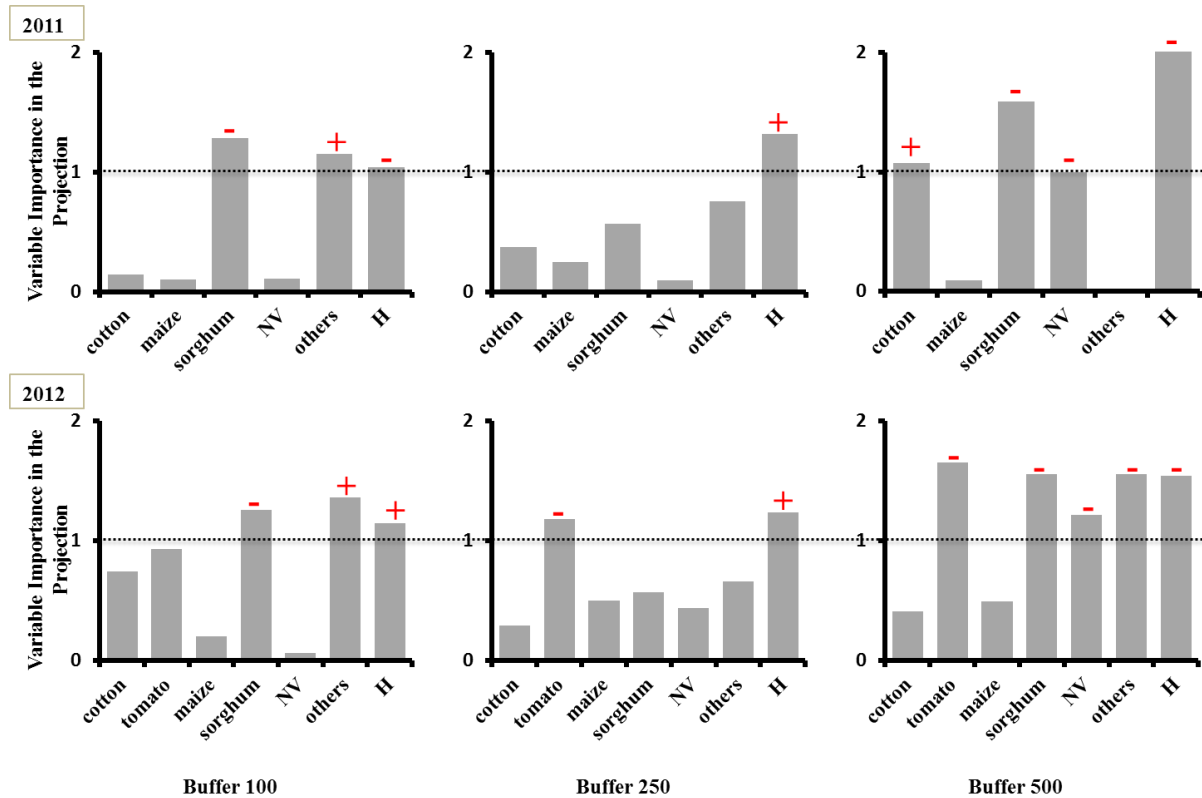


Figure 43. Variable Importance in Projection (VIP) of the landscape variables investigated to predict the proportion *H. armigera* which fed on cotton during their larval stage (gossypol signature), at the three nested spatial scales (buffers 100 m, 250m and 500m) for the two years (2011 and 2012). Variables above the black line ($VIP \geq 1$) are defined as the most important to predict the abundance of *H. armigera*. The signs (+) or (-) above represent the sign of the relation with the response variable (see Appendix E for exact values). Refer to Tab. 12 for the complete name of variables.

IV-4-4 Discussion

Our study aimed at investigate the influence of landscape composition and landscape diversity crop host plants on *H. armigera* abundance and trophic origin according to three spatial scales (100, 200 and 500 m). We showed that 500 m was the spatial scale for which there was the most relationships between *H. armigera* (total abundance, C₃ and C₄-group abundance, gossypol-group abundance) and landscape variables. Although the effect and importance of landscape variables vary according to the buffer size and the year, we found that landscape diversity in crop host plant is a key factor determining *H. armigera* abundance and its choice of host plant.

IV-4-4-1 Consider landscape variables at larger spatial scale

First of all, we showed a general trend towards a large number of important explanatory variables as the spatial scale increased. We thus conclude that, among the three spatial scales considered, the 500m one appears the most meaningful scale in explaining *H. armigera* infestation. Schellhorn et al. (2008) argued that the multivoltine and highly mobile characteristics of *H. armigera* make pest management at individual crop and farm scales flawed. Our result suggests that considering the landscape context around cotton fields is essential to manage *H. armigera* outbreaks.

IV-4-4-2 The dominant effect of landscape diversity on *Helicoverpa armigera*

Our results showed that landscape diversity in crop host plants was the key predictor to explain the abundance of *H. armigera* and its trophic origin whatever the year and the spatial scale (except at 100 m in 2011). Consistent with our results, Sivakoff, Rosenheim, Dutilleul and Carriere (2013) show that, diversity of host plant in the landscape enhanced the abundance of *Lygus hesperus* a polyphagous pest in cotton fields. The sign of the relationship of landscape diversity with the abundance of *H. armigera* and its trophic origin vary according to the spatial scale. Overall, the general trend of our results is that the pest *H. armigera* was more abundant in more diverse landscapes. So, we validated our first hypothesis. Due to its polyphagous characteristic, *H. armigera* is attracted to different host plants and its life cycle depends on the suitability of the host plant at a given

period. Landscape diversity, encompassing diverse crop host plants, provides a range of refuges and alternative resources which favor polyphagous species.

IV-4-4-3 A relatively weak role of the proportion of cotton

Focusing on the 500 m scale, we found that the more there were C₃ or C₄ host plants in the landscape, the more there were *H. armigera* showing respectively C₃- or C₄-trophic origin. But, our expectation that the proportion of cotton crops in the landscape would be the most relevant predictor of *H. armigera* abundance and cotton used as resource was not confirmed. So, our second hypothesis is partially validated. Contrary to the abundance of *H. armigera* larvae (Tsafack, Menozzi, Brevault, Soti, Deconchat, & Ouin 2013), the abundance of *H. armigera* adults did not respond to the resource concentration hypothesis. Previous studies showed that cotton was the preferred host plant of *H. armigera* but was not always selected for oviposition or foraging (Fitt 1989; Singh & Sidhu 1990; Nibouche, 1994). Stephens et al. (1993) argued that insects experienced learning host selection. Indeed, Cunningham et al. (1998) found that *H. armigera* adult experience can significantly affect the relative acceptability of host plants to ovipositing or to foraging. In that way, learning may alter the host plant preference of *H. armigera* for cotton and mask the effect of cotton proportion in the landscape to explain variation on abundance and/or trophic origin. Another hypothesis to explain our results concerns environmental cues for diapause. Diapause constitutes a strategy by which insects avoid unfavourable conditions (Carriere, Roff, & Deland 1995). Liu et al. (2010), experiencing diapause induction on *H. armigera*, found that larval host plants may influence the occurrence of long diapause. In particular, they showed that cotton plants induced diapause from twice to five times more than tomato and maize respectively. So, in a landscapes displaying as favourable environmental and climatic conditions as ours (Nibouche, 1994), we suspect that *H. armigera* avoid cotton with the aim to avoid diapause.

IV-4-4-4 A signal towards the tomato trophic origin study

Contrary to the proportion of cotton in the landscape, we detect a cue of the importance of the proportion of tomato to explain the abundance of *H. armigera* in the landscape. We found a positive relationship with the abundance of *H. armigera* at buffer 500 m. In accordance, Lu and Baker (2013) found that tomato by providing earlier flowering

opportunity may host *H. armigera* more than cotton and thus support the abundance of *H. armigera* in the landscape. The relative importance of the proportion area of tomato was also demonstrated for larval abundance in the landscape (Tsafack, Menozzi, Brevault, Soti, Deconchat, & Ouin 2013). Tomato proportion area may probably explain a significant proportion of individuals showing a C3-trophic origin as tomato plants undergo a C3 photosynthetic pathway (Eriksen, Selldén, & Skogen 1981). Nevertheless, we are not able to state about a tomato-trophic origin because of a lack of tomato marker.

IV-4-5 Conclusion

Our study focusing on various spatial scales confirmed that landscape context is important for pest management studies. To our knowledge, this is the first study using the trophic origin in order to determine the landscape diversity and composition influence on *H. armigera* infestation. We showed that the landscape diversity in crop host plants is strongly involved in explaining the abundance of *H. armigera* and its trophic origin. Therefore, we advocate focusing on landscape diversity when studying and developing pest management strategies. Among crop types, tomato requires particular attention as the proportion of tomato in the landscape enhances the abundance of *H. armigera*. To completely validate these results, we need to identify biomarkers able to characterize tomato trophic origin. Finally, our study indicates that effects of landscape are not adequately characterized by short-term (one or two years) studies. To fully understand landscape composition effects on *H. armigera* and provide detailed recommendations for pest management, studies should encompass a long study time period in order to reduce interannual variations.

Acknowledgments

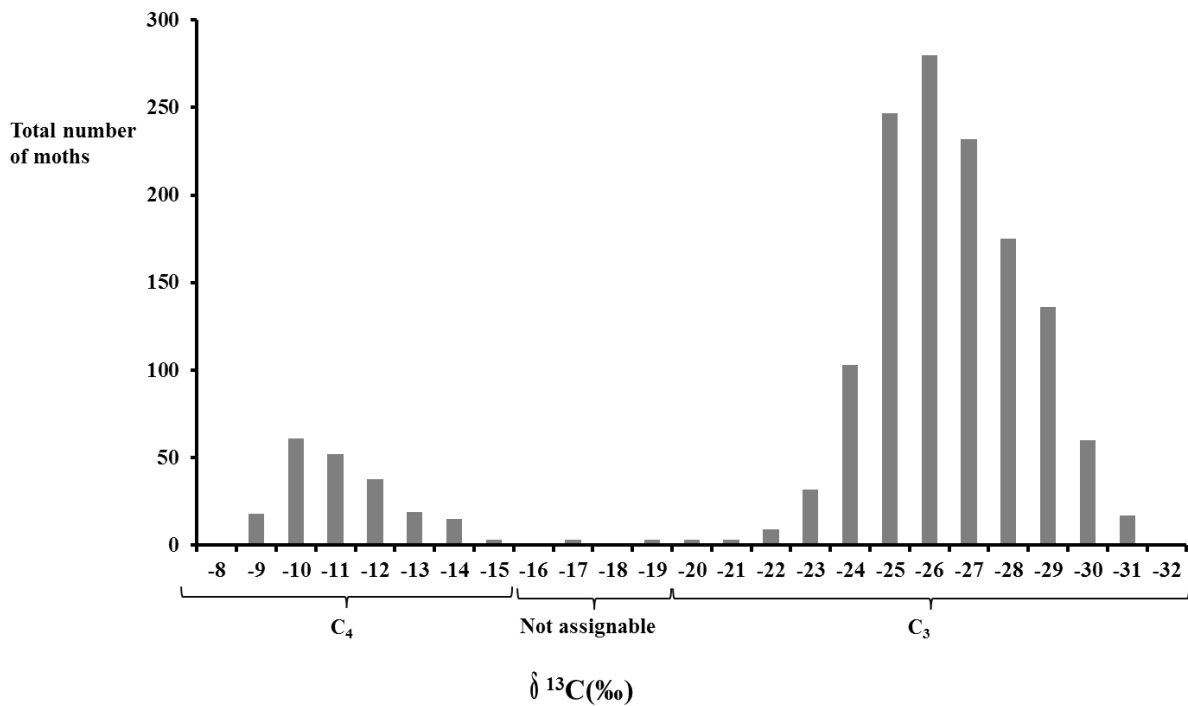
This work was supported by the FSP program (Fond de solidarité prioritaire, FSP Mobilisateur n° 2006 – 43) from the French Ministry for Foreign Affairs (MAE). We are extremely thankful to the cotton farmers of Angaradébou in northern Benin for their interest in the project and for allowing us to do research in their fields. We thank the local cotton experts of Kandi in Northern Benin. Noelline Tsafack's Ph.D fellowship was granted by the CIRAD.

List of appendices

Appendix A. GLM-PLS estimates of landscape variables to explain the abundance of *H. armigera*. In bold, coefficients of the most important variables (with $VIP \geq 1$). -- indicates the absence of tomato proportion in the 2011 dataset, so the variable was not integrated in the model for this year.

Landscape variables	2011	2012
Co100	+0.0033	+0.0015
Co250	+0.0026	-0.0020
Co500	-0.0003	-0.0019
To100	--	+0.0031
To250	--	+0.00464
To500	--	+0.0886
Ma100	-0.0078	+0.0021
Ma250	-0.0037	+0.0073
Ma500	-0.0048	+0.0040
So100	+0.0110	+0.0059
So250	-0.0034	-0.0070
So500	+0.0085	+0.0167
NV100	+0.0042	+0.0057
NV250	-0.0067	-0.0013
NV500	+0.0014	-0.0042
Others100	-0.0409	+0.0096
Others250	-0.0076	+0.0153
Others500	-0.0085	+0.0002
H100	+0.4984	-0.2242
H250	+0.3418	-1.5707
H500	+0.8594	+0.3638

Appendix B.



Total number of individuals analysed for carbon stable isotopes (C₃/C₄). C₄ represents individuals that fed on C₄ host plants (Maize or sorghum) and C₃ represents individuals that fed on C₃ host plants (cotton or tomato). Some individuals were not assignable to any group.

Appendix C. GLM-PLS estimates of landscape variables used to explain the proportion of *H.*

armigera with C₃ trophic origin. In bold, coefficients of the most important variables (with VIP_≥1).

Landscape variables	2011	2012
C ₃ host plants100	+0.0050	+0.0095
C ₃ host plants250	-0.0104	+0.0005
C ₃ host plants500	-0.0095	+0.0073
NV100	-0.0103	-0.0067
NV250	-0.0044	-0.0124
NV500	+0.0080	+0.0095
Others100	-0.0149	+0.0177
Others250	+0.0003	+0.0263
Others500	+0.0008	-0.0227
H100	+0.6551	+0.4594
H250	-0.4471	-0.4359
H500	-0.0884	-0.1350

Appendix D. GLM-PLS estimates of landscape variables used to explain the proportion of *H.*

armigera with C₄ trophic origin. In bold, coefficients of the most important variables (with VIP_≥1).

Landscape variables	2011	2012
C ₄ host plants100	+0.0031	+0.0079
C ₄ host plants250	-0.0192	-0.0131
C ₄ host plants500	+0.0023	+0.0074
NV100	+0.0121	+0.0115
NV250	-0.0001	+0.0114
NV500	-0.0151	-0.0148
Others100	+0.0034	-0.0221
Others250	-0.0068	-0.0262
Others500	-0.0059	+0.0351
H100	-0.2759	+0.3439
H250	+0.8396	+0.0395
H500	-0.1565	-0.9023

Appendix E. GLM-PLS estimates of landscape variables used to explain the proportion of *H. armigera* with fed on cotton during their larval stage (gossypol signature). In bold, coefficients of the most important variables (with $VIP \geq 1$). -- indicates the absence of tomato proportion in the 2011 dataset, the variable was not integrated in the model for this year.

Landscape variables	2011	2012
Co100	-0.0038	-0.0024
Co250	-0.0027	-0.0053
Co500	+0.0075	+0.0015
To100	--	-0.0230
To250	--	-0.0224
To500	--	-0.1143
Ma100	+0.0043	+0.0047
Ma250	+0.0008	+0.0004
Ma500	+0.0030	+0.0012
So100	-0.0128	-0.0103
So250	+0.0166	+0.0190
So500	-0.0208	-0.0188
NV100	-0.0032	-0.0079
NV250	+0.0024	+0.0013
NV500	-0.0129	+0.0043
Others100	+0.0063	+0.0382
Others250	-0.0035	+0.0251
Others500	+0.0016	-0.0188
H100	-0.5221	+0.1276
H250	+1.1817	+1.1613
H500	-2.9390	-0.5343

Partie V : Discussion générale et perspectives

V-1 Une difficile détection d'une migration Sud/Nord

En Afrique de l'ouest, au Burkina Faso, Nibouche 1994 a étudié la biologie et l'écologie d'écologie d'*H. armigera*. Il a montré que les pics d'infestation d'*H. armigera* observés dans le nord du pays coïncidaient avec l'arrivée de la mousson (le vent venant du sud vers le nord). Dans notre étude, nous avons posé l'hypothèse selon laquelle les individus infestant les parcelles pendant les pics d'infestation étaient issus des populations migrantes. Cette hypothèse se subdivisait en trois points. Premièrement, le pic d'infestation se déplacerait progressivement avec le vent du sud vers le nord au début de la saison des pluies et inversement à la fin de la saison des pluies. Deuxièmement, les populations d'*H. armigera* observées pendant le pic d'infestation étaient des populations migrantes qui ont migré du sud vers le nord à l'aide de la mousson. Troisièmement, nous supposons qu'à la fin de la saison des pluies une nouvelle génération migrerait vers le sud aidé par le vent venu du nord (l'Harmattan). La première hypothèse est discutée dans la partie V.1.1 et les 2^{ème} et 3^{ème} hypothèses sont discutées dans la partie V.1.2.

V-1-1 Une absence de déplacement sud/nord du pic d'infestation

Nos résultats ne montrent pas de déplacement temporel du pic d'infestation entre le sud et le nord du Bénin (Partie II-4). Les pics d'infestation entre les sites étudiés le long du gradient sud-nord apparaissent à la même date : le 02 octobre. On observe par ailleurs une forte densité d'*H. armigera* dans le nord par rapport au sud toute l'année. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce résultat : i) les populations des différents sites sont locales ii) les populations ne se déplaceraient que sur de courtes distances de l'ordre de 50-100 kilomètres maximum. Nous allons confronter ces deux hypothèses aux études sur *H. armigera* rencontrés dans la littérature.

Concernant la première hypothèse selon laquelle l'absence de déplacement du pic d'infestation sud/nord s'expliquerait par le fait que les populations observées dans les différents sites sont locales, il faut noter que *H. armigera* est un migrant facultatif, qui migre seulement si les conditions de vie (température, ressources) sont défavorables. L'hypothèse posée aurait pu être vérifiée si les conditions locales étaient continuellement favorables pour le développement d'*H. armigera*. Mais, il apparaît que le nord du Bénin (notre étude) comme l'ouest du Burkina-Faso (Nibouche 1994) est caractérisé par une longue saison sèche avec

une absence de cultures dans les paysages agricoles. Les sols étant laissés à nu à la fin de la saison des pluies. Seuls les périmètres maraichers le long des cours d'eau permanents pourraient constituer une ressource pour les populations d'*H. armigera*. De plus, Nibouche (1994) pendant la saison sèche (entre novembre et juin) sur deux années (1993 et 1994) a creusé des parcelles ayant abrité du cotonnier (pendant la précédente saison des pluies) et de la tomate attaquées par *H. armigera*. Sur 23800m² d'anciennes parcelles de coton et 1100 m² d'anciennes parcelles de tomate, ils ont obtenu respectivement pour coton et tomate 8 chrysalides et 1 chrysalide. Ces 9 chrysalides constituent le nombre d'individus qui sont entrés en diapause pour attendre la saison des pluies pour des meilleures conditions de développement. Ce nombre étant nettement inférieur au nombre d'individus attendus pour une telle surface creusée, nous supposons que la majorité des individus n'entrent pas en diapause mais se déplacent vers des refuges/foyers (maraichers) pour continuer leur cycle de vie ou ne survivent pas à la diapause.

Concernant la seconde hypothèse selon laquelle l'absence de déplacement du pic d'infestation du sud vers le nord du Bénin s'expliquerait par des déplacements des populations sur de courtes distances. En effet, le nord du Bénin qui constitue la région la plus productrice de coton au Bénin est éloignée de seulement une centaine de kilomètres du fleuve Niger qui est un fleuve permanent toute l'année (Fig. 11). Ce fleuve alimente les parcelles maraichères (tomates, piments et oignon principalement) installées à proximité presque toute l'année. La tomate étant une plante hôte d'*H. armigera*, ce site pourrait constituer un foyer pour les sites du nord. De même dans le sud, la présence de nombreux cours d'eau alimentant les cultures maraichères favorisent le maintien local des populations d'*H. armigera*. Nous supposons que les individus se déplaceraient sur de petites distances et formeraient des sous-populations locales. Le test de la tomatine comme marqueur de la plante hôte de l'individu adulte capturé ne s'étant pas révélé concluant, une possibilité pour tester l'hypothèse selon laquelle les individus infestant le cotonnier proviendraient des périmètres maraichers du Niger (Malanville) serait de tester la résistance aux insecticides (Brevault et al. 2008)).

Les deux hypothèses présentées ci-dessus n'excluent pas la présence des populations migrantes d'*H. armigera*. La pertinence des outils utilisés pendant notre étude a été aussi discutée dans les Parties II-2 et II-3. La partie V-1-2 synthétise les résultats principaux que nous avons obtenus.

V-1-2 Des difficultés méthodologiques pour connaître l'origine géographique des individus au Bénin (Isotopes stables de l'hydrogène, Analyse flore bactérienne).

Nous avons posé les hypothèses selon lesquelles i) les individus observés dans les parcelles de cotonnier au nord du Bénin en septembre étaient issus des populations qui ont migré du sud vers le nord aidé par des vents (la mousson). Et inversement ii) à la fin de la saison des pluies, une nouvelle génération se déplaçait du nord vers le sud grâce au vent du nord ; l'Harmattan. Pour tester ces deux hypothèses, parmi le large éventail de méthodes qui existent dans la littérature pour l'analyse de la migration (Partie II-1), nous avons choisi deux méthodes qui nous paraissaient les mieux adaptées aux conditions de terrain dans le Nord-Bénin. Il s'agit de l'analyse de la composition en isotopes stables de l'hydrogène (δH) (Partie II-2) et de l'analyse de la flore bactérienne (Partie II-3) hébergée par les insectes. Aucune étude ayant utilisé ces méthodes n'ayant été faites dans le contexte de l'Afrique de l'ouest, nous avons commencé notre travail par une phase de mise au point méthodologique.

Dans la littérature, l'analyse d' δH pour déterminer l'origine géographique est assez courante. Cette méthode a connu un franc succès depuis les années 2000 (Wassenaar et Hobson 2000 ; 2003). Elle a été utilisée pour déterminer l'origine géographique du monarque aux USA (Wassenaar et Hobson 1998). En Europe, Brattström et al. 2008 l'ont utilisé pour déterminer l'origine trophique des populations du paon européen (*Inachis io*). La méthode paraît accessible, mais elle présente toutefois des exigences à respecter pour obtenir des résultats fiables. Nos résultats n'ont pas montré de différence d'origine géographique entre les individus analysés. La qualité de ces simulations dépend du nombre de stations météorologiques disponibles pour les calculs, ce nombre est assez faible en Afrique de l'Ouest (moins d'une dizaine). Il est probable que l'analyse des δH n'est pas assez sensible pour discriminer l'origine géographique des individus *H. armigera* piégés entre le nord et le sud du Bénin. La procédure appliquée pour cette mise au point méthodologique reste néanmoins discutable. Une des limites les plus probables concerne la résolution liée à la latitude. En effet Meehan et al. (2001) ont montré qu'il existait une résolution latitudinale seuil ($\geq 1,5^\circ$) pour discriminer l'origine géographique des populations d'oiseaux (épervier de Cooper). Ce seuil n'est pas connu pour les insectes. Cette mise au point méthodologique nécessitant des analyses plus pointues (et coûteuses), nous avons fait le choix dans le cadre de cette thèse de ne pas poursuivre cette mise au point méthodologique.

Par ailleurs, nous avons également choisi de mettre au point l'analyse de la flore bactérienne par DGGE (Electrophorèse par Gel en Gradient Dénaturant). Cette méthode innovante n'avait pas de précédent d'étude chez les lépidoptères, ni dans le contexte de l'Afrique tropicale. Nos résultats ont montré des similitudes entre les flores bactériennes des individus témoins provenant d'un même site et des différences entre les individus adultes piégés dans les parcelles. Comme la précédente méthode, cette méthode présente aussi des biais. Dans la littérature, les résultats sont très controversés à ce sujet. Certaines ont montré que la flore bactérienne était corrélée à l'origine géographique (Le Nguyen et al. 2008 a et b ; El Sheikha et al. 2009), d'autres au type d'habitat (Haynes et al. 2003 ; Zouache et al. 2011), d'autres au régime alimentaire (Xiang et al. 2006 ; Kopecny et al. 2010 ; Priya et al. 2012) et d'autres encore à l'âge ou stade de développement de l'espèce étudiée (Dillon et al. 2010). Nos résultats montrent une forte diversité dans la composition bactérienne entre les individus d'une espèce polyphage, ce qui n'a pas permis d'établir une corrélation entre la composition bactérienne et l'origine géographique. (Partie II-3).

Au final, il ressort de ces travaux de mises au point que les méthodes (Deutérium et flore bactérienne) ne permettent pas au stade actuel des données disponibles de déterminer l'origine géographique des individus *H. armigera* analysés au Bénin. Les hypothèses que nous avons posées selon lesquelles qu'il existerait une migration sud/nord au début de la saison des pluies et une autre nord/sud à la fin de la saison des pluies n'ont pas pu être testées.

Le choix des méthodes à mettre au point a été guidé par un compromis entre le coût des méthodes, le temps de travail, les possibilités de conservation des échantillons sur le terrain, la disponibilité du personnel pour la mise au point de l'analyse de la flore bactérienne.

Nous avons poursuivi cette étude par une analyse des effets des variables locales sur l'abondance de larves d'*H. armigera* dans une parcelle de cotonnier. Nous avons posé l'hypothèse que si les variables locales à la parcelle avaient un effet sur l'abondance des larves alors, on pourrait supposer que les populations soient plus locales que migrantes. Dans la partie suivante, nous discutons de nos résultats sur les études des effets des pratiques agricoles sur l'infestation.

V-2 Les variables locales influençant l'abondance des larves d'*Helicoverpa armigera*.

Des études ont montré que les pratiques de l'agriculteur au niveau de la parcelle avaient un effet sur la biodiversité (Ammann 2004 ; Landis et al. 2000) et par conséquent sur l'abondance des ravageurs (Abd-Ramou et Simmons 2012; Duyck et al. 2012). Les travaux de Renou et al. 2011 ont montré que l'écimage manuel des cotonniers en plein stade de floraison réduisait nettement l'infestation d'*H. armigera*. En effet, dans des parcelles de cotonnier, ils ont montré que l'écimage des cotonniers 15 jours après la première fleur réduisait de 56% le nombre de larves dans la parcelle sans effet sur le rendement final de la parcelle. De même, Lu et Baker (2013) ont montré que les parcelles de cotonnier préalablement labourées étaient moins infestées par *H. armigera* que celles qui n'avaient pas été labourées. Ils montrent également que l'irrigation de la parcelle en détruisant les chrysalides réduit l'infestation. Plusieurs études ont montré que la rotation de culture avait un effet soit sur les interactions ravageurs-ennemis naturels (Thies et al. 2008) soit sur l'abondance des ravageurs (Koenning et al. 1995, Mock et al. 2012). En effet, Koenning et al. (1995) ont montré dans des parcelles de soja suivies pendant six années que la densité du nématode *Heterodera glycines*, principal ravageur de soja, était plus faible dans des parcelles ayant un précédent cultural différent du soja. Plus récemment, Mock et al. 2012 confirment ces résultats. Ils ont comparé la densité d'*H. glycines* dans les parcelles de soja et ont montré que les parcelles de soja ayant un précédent cultural maïs étaient moins infestées que celles qui avaient un précédent cultural soja.

Par ailleurs, la date de semis est un facteur très important pour les agriculteurs. Les dates de semis sont généralement fonction des conditions climatiques de chaque région ; elles définissent de ce fait le calendrier cultural d'une région. Des études montrent que la date de semis peut aussi avoir un effet sur l'infestation dans une parcelle. Dans cet ordre d'idée, Dosdall et al. 1996 ont montré qu'un semis tardif (fin mai) de colza avait un effet négatif sur l'infestation par les mouches crucifères *Delia spp.* Ils ont en effet observé une différence significative entre le nombre d'œufs de *D. radicum* et *D. floralis* entre les parcelles semées tôt (début et mi- mai) et celles semées tard (fin-mai). L'endommagement racinaire était plus prononcé dans les parcelles semées tôt par rapport à celles semées tardivement. Ils ne préconisent cependant pas des semis tardifs parce qu'ils ont remarqué que même si la parcelle était moins infestée, les rendements étaient néanmoins plus faibles. Pour des parcelles de

niébé également, Asante et al. (2001), ont aussi montré que la date de semis était un paramètre qui influençait les populations des pucerons *Aphis craccivora* Koch. Dans une autre mesure, de nombreuses études montrent que l'apport d'intrants chimiques notamment les pesticides influence négativement l'infestation dans une parcelle.

S'appuyant sur ces études, nous avons testé les effets des pratiques agricoles les plus communément observées dans notre zone d'étude sur l'infestation des parcelles de cotonnier par les larves d'*H. armigera* (Partie III). Ainsi, nous avons testé les effets de la fréquence d'application des pesticides, de la date de semis, de la fréquence de sarclage manuel et du précédent cultural sur l'infestation d'*H. armigera* (Tsafack et al. 2013).

Les résultats de notre travail confirment ceux des études précédentes : les pratiques agricoles ont un effet sur l'infestation dans une parcelle. Nous avons montré que le semis tardif (début-juillet) avait un effet significatif et négatif sur l'infestation des parcelles de cotonnier. Par contre les parcelles semées fin-mai ou en juin étaient les plus infestées. En effet, le cotonnier étant attractif pendant sa phase de floraison et la majorité des parcelles de cotonnier étant semées entre fin-mai et en juin, nous supposons de ce fait que le pic d'infestation étant passé avec la période d'attractivité de la majorité des parcelles, les parcelles semées tardivement sont protégées de l'infestation. Toutefois, nous n'avons pas comparé les rendements aux différentes dates de semis ; ce résultat est donc à prendre avec précaution. Par ailleurs, nos résultats ont montré que la fréquence de sarclage et la fréquence de traitement étaient aussi des variables qui influençaient significativement l'infestation d'*H. armigera* dans une parcelle. Comme Lu et Baker (2013), nos résultats ont montré que les parcelles les plus sarclées étaient les moins infestées. Dans notre zone d'étude, les parcelles étaient sarclées en moyenne trois fois. Les plus sarclées l'étaient quatre fois et les moins une seule fois. En mettant cette fréquence en rapport avec la période d'attractivité du cotonnier (période de floraison), nous avons constaté que le troisième sarclage était réalisé juste pendant la période d'attractivité. Nous supposons que ce troisième sarclage détermine aussi la vulnérabilité face à l'infestation des cotonniers dans la parcelle. Une parcelle sarclée à cette période serait ainsi moins vulnérable. Cette supposition confirme les hypothèses proposées par Heinrichs (1988) qui stipule que les plantes les plus stressées et donc les moins vigoureuses seraient les plus vulnérables à l'infestation. Concernant la fréquence de traitement, avec surprise, nos résultats ont montré que plus une parcelle était traitée aux pesticides, plus elle était infestée. Aucune autre étude dans la littérature n'a montré de tels résultats ; nous supposons que les dosages ou

la qualité des pesticides utilisés dans le Nord Bénin ne sont pas adaptés pour la lutte contre *H. armigera*. Il est également possible que les populations d'*H. armigera* présentes dans cette zone d'étude soient des populations résistantes aux pesticides utilisées comme l'a montré Brévault et al (2008) à propos de populations d'*H. armigera* dans le Nord-Cameroun. Enfin, nous avons aussi analysé les effets du précédent cultural sur l'infestation d'*H. armigera*. Notre analyse était basée sur l'hypothèse selon laquelle *H. armigera* pouvait entrer en diapause dans le sol d'une parcelle qu'il avait précédemment infestée puis émerger pour infester de nouveau la parcelle. Dans notre zone d'étude, les parcelles de cotonnier pouvaient avoir pour précédent cultural des parcelles de tomate précédemment infestées par *H. armigera*. Nos résultats ont montré que le précédent cultural avait un effet significatif et positif sur l'infestation. Nous avons montré que les parcelles de cotonnier qui étaient précédées de tomates étaient les plus infestées et celles précédées du maïs étaient les moins infestées (Tsafack et al. 2013). En effet, bien que la diapause soit un stade facultatif pour de nombreux lépidoptères polyphages en zone tropicale du fait de la présence continue de ressources (Hackett et Gatehouse 1982 ; Hardwick 1965 ; Carrière et al. 1995 ; Liu et al. 2010), Nibouche (1994) a montré qu'*H. armigera* pouvait entrer en diapause durant la saison sèche pendant au moins deux-trois mois pour attendre des conditions favorables. Ainsi, du fait que les parcelles de tomates dans la zone d'étude soient souvent cultivées jusqu'au mois de mars, *H. armigera* pourrait entrer en diapause et y rester pendant trois-quatre mois attendant la période de floraison de la parcelle de coton installée à la place de la précédente parcelle de tomate.

Ces résultats montrent que l'abondance d' *H. armigera* dans une zone est aussi déterminée par des facteurs locaux comme les pratiques agricoles. Nos résultats confirment que la diapause facultative est une des caractéristiques physiologiques pertinentes d'*H. armigera* pour le choix de la parcelle hôte. Ce qui peut nous conduire à penser que les populations migrent très peu. Pour compléter ces résultats, nous avons analysé les effets des variables paysagères sur l'abondance d'*H. armigera*.

V-3 Les variables paysagères influençant l'abondance des adultes et des larves d' *Helicoverpa armigera*.

Pour identifier les déterminants de l'installation d'*H. armigera* dans une parcelle de cotonnier, nous avons testé les effets des variables paysagères premièrement sur l'abondance des larves (Partie III) et des adultes (Partie IV-4) ; et ensuite sur l'origine trophique des adultes (Partie IV-4). Pour analyser l'abondance des larves d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier, nous avons posé trois hypothèses. La première : l'hypothèse de la concentration des ressources développée par Root (1973) qui prédit une corrélation positive entre les herbivores (comme les ravageurs) et la densité des ressources (plante hôte). En effet, en Afrique de l'ouest, Nibouche (1994) a montré que le cotonnier était la plante hôte privilégiée d'*H. armigera*. En posant cette hypothèse nous avons supposé que dans un environnement paysager composé d'une forte densité de cotonniers, adultes ou larves d'*H. armigera* seront plus abondants. La deuxième : l'hypothèse de l'hôte alternatif où nous stipulons que la présence d'autres plantes hôtes d'*H. armigera* dans un environnement paysager pourrait diluer l'abondance d'*H. armigera* dans la parcelle de cotonnier étudiée. Les plantes hôtes d'*H. armigera* alternatives au cotonnier, présentes dans la zone d'étude étaient la tomate, le maïs et le sorgho en plus faible proportion. Nous avons supposé que si ces plantes hôtes étaient présentes dans l'environnement paysager d'une parcelle de cotonnier, alors elles pourraient servir de refuge en dehors de la période d'attractivité du cotonnier. La troisième : l'hypothèse du rôle ambivalent de la végétation naturelle où nous supposons que la proportion de végétation naturelle dans un environnement paysager pouvait, soit augmenter l'abondance d'*H. armigera* dans une parcelle de cotonnier voisine en hébergeant des plantes hôtes d'*H. armigera*, soit diminuer l'abondance d'*H. armigera* en constituant un refuge pour les ennemis naturels d'*H. armigera*.

Parallèlement, d'une façon générale, pour comprendre la contribution des plantes hôtes à l'infestation d'*H. armigera* dans une parcelle de coton, nous avons cherché une relation entre l'origine trophique et les plantes hôtes dans le paysage groupées par type photosynthétique (C_3/C_4). Nous avons pour cela analysé les proportions d'isotopes stables de carbone sur les ailes des adultes pour obtenir leur l'origine trophique. Enfin, pour approfondir cette étude nous avons essayé de voir s'il y'avait une relation entre la proportion de cotonnier dans le paysage et l'origine trophique – cotonnier d'*H. armigera*. Le gossypol molécule spécifique au cotonnier est séquestré dans le corps des adultes s'étant nourri de cotonnier pendant leur stade

larvaire. Nous avons obtenu l'origine trophique-cotonnier des adultes en analysant les résidus de gossypol chez les adultes (Partie IV-4).

Le choix méthodologique pour l'analyse paysagère d'*H. armigera* a été fastidieux pour plusieurs raisons. Nous discutons de ce choix méthodologique dans la partie suivante.

V-3-1 Quelle approche paysagère pour un papillon migrateur facultatif ?

Pour tester nos hypothèses posées et répondre au deuxième volet de notre question de recherche « Quels sont les facteurs paysagers qui seraient les moins favorables à la présence d'*Helicoverpa armigera* ? », nous avons dû mettre au point un protocole adapté à l'espèce étudiée mais aussi au contexte de l'Afrique de l'Ouest. En effet, la noctuelle *H. armigera* présente plusieurs caractéristiques qui rendent les études de ses déplacements particulièrement complexes. *H. armigera* est un migrant facultatif : des études ont montré qu'*H. armigera* pouvait se déplacer sur de longues distances (~1000 km) (Feng et al. 2009, Fitt. 1989) et à haute altitude (~1,2km du sol). Cependant, Fitt et al. (1995) ont également montré que ces déplacements dépendaient aussi des ressources présentes sur le site d'émergence des chrysalides. À l'aide de la méthode de capture-marquage-recapture (Partie II-1) , ils ont montré qu'*H. armigera* effectuait des déplacements de courtes distances tant que les ressources étaient suffisantes pour son développement. Les résultats de Cunningham et al (1998a et b) confirment les précédents. Ils ont montré qu'il y avait un apprentissage chez la femelle *H. armigera* qui pondait ses œufs dans les parcelles où elle trouvait à se nourrir elle-même (nectar donc plantes hôtes en floraison). La présence de ressources semble être le facteur déterminant des déplacements d'*H. armigera*. *H. armigera* est un aussi un diapausant facultatif : la diapause étant le stade de dormance prolongée entre le stade larvaire et le stade adulte. Chez *H. armigera*, l'entrée en diapause est influencée par la photopériode, la température (Li et al. 1981 ; Nibouche 1994 ; Jallow et Matsumura 2001) et par le type de plante hôte (Liu et al. 2010). Les résultats de Liu et al. (2010) ont montré au laboratoire que le nombre d'individus nourris sur cotonnier qui entraient en diapause était plus important que ceux nourris sur tomate ou maïs. Ils ont conclu que, des sept plantes hôte étudiées, le cotonnier était celle qui induisait le plus la diapause. Plus récemment, les études de Chen et al 2014 ont montré que la durée de vie des individus qui avaient diapausé était plus longue que celle des individus qui avaient effectué un développement direct sans diapause. Le type de

plante hôte semble être parmi les facteurs cités un des plus pertinents qui induit la diapause chez *H. armigera*.

De plus *H. armigera* est un aussi polyphage; en Inde, il a été observé sur environ 180 espèces de plantes (Manjunath et al. 1989), en Australie sur près de 172 (Zalucki et al. 1994) et en Afrique de l'ouest sur une vingtaine d'espèces (Nibouche, 1994). Il présente un fort taux de fécondité et en conséquence des caractéristiques suscitées, *H. armigera* est multivotin (plusieurs génération dans l'année) quand les conditions sont favorables comme en Afrique de l'Ouest dans notre zone d'étude.

Il ressort de la littérature que les ressources et le type de plante hôtes dans le paysage déterminent l'installation d'*H. armigera* dans une parcelle. Nous avons orienté de ce fait notre recherche vers les éléments du paysage qui expliquaient cette installation. Les piégeages lumineux ont été privilégiés afin de prélever à la fois les individus mâles et femelles. Le comportement des individus varieraient selon le sexe dans une parcelle (Cunningham et al. 1998a). Aussi, l'étude de l'origine trophique de *H. armigera* apporte un plus. L'étude des déterminants paysagers de l'origine trophique apportent des précisions sur le type de plante hôte qui attire *H. armigera* dans le paysage. Pour l'analyse de l'origine trophique, il était donc nécessaire de mettre au point des outils qui permettaient de déterminer le type de plante hôte sur lequel s'étaient nourris les adultes pendant leur stade larvaire et comprendre de ce fait le comportement d'*H. armigera* pendant la ponte. Dans la littérature, l'analyse des isotopes stables du carbone représente l'outil par excellence pour déterminer l'origine trophique des insectes polyphages comme *H. armigera* (Partie II-1). Cet outil n'est cependant pas suffisamment précis car l'information concernant l'origine trophique s'arrête au type photosynthétique de la plante hôte sur laquelle s'est nourri l'adulte pendant sa phase larvaire. Orth et al. 2007 ont mis au point une méthode de détermination des métabolites secondaires des plantes hôtes séquestrées chez les ravageurs polyphages. Ils ont ainsi détecté la cotinine (glyco-alcaloïde spécifique au tabac) et le gossypol (glyco-alcaloïde spécifique au cotonnier) chez *Heliothis virescens* dans le but de comprendre lesquelles des deux plantes hôtes attiraient le plus ce ravageur dans le paysage. En se basant sur cette méthode, l'analyse du gossypol a été utilisée dans notre étude pour déterminer l'origine trophique des adultes piégés. Le paysage de la zone d'étude étant composé de plantes hôtes autre que le cotonnier, nous avons essayé de mettre au point également l'analyse de la tomatine, marqueur de la tomate. Les

résultats montrent que la tomatine n'est pas séquestrée chez l'adulte (Partie IV-2) et ne nous permettent pas d'utiliser la tomatine comme marqueur de la tomate.

Un autre choix méthodologique déterminant dans cette étude a été le choix de l'échelle spatiale. S'il est certain que les déplacements des larves d'*H. armigera* ne dépassent pas l'ordre d'une dizaine de mètres, ceux des adultes par contre sont plus complexes à déterminer pour toutes les raisons suscitées. Par conséquent, nous avons fait le choix de distinguer la distribution des larves et celle des adultes dans le paysage. Concernant les adultes, nous avons analysé les mouvements de routine. L'échelle spatiale pour l'étude de l'abondance des larves était de 500 mètres autour du centre de la parcelle de cotonnier étudiée (Partie III). Pour l'étude de l'abondance et de l'origine trophique des adultes nous avons choisi les échelles 100, 250 et 500 mètres respectivement pour capter les échanges avec l'environnement immédiat, intermédiaire et maximal par rapport au relevé de la couverture végétale disponible.

V-3-2 Une proportion en plantes hôtes dans un paysage explique l'infestation larvaire dans les parcelles de cotonnier.

Nos résultats ont montré que la composition d'un paysage déterminait l'installation larvaire d'*H. armigera* dans une parcelle de cotonnier (Partie III) : la proportion de cotonnier dans le paysage serait positivement corrélée à l'abondance des larves dans les parcelles de cotonnier étudiées. Ce résultat confirme l'hypothèse de la concentration des ressources (Root, 1973). De même, nous avons observé que la proportion de tomate était aussi positivement corrélée à l'infestation. Ce résultat rejoint celui montré par Lu et Baker (2013) en Chine. Il est alors évident que la tomate qui fleurit plus tôt et plus souvent que le cotonnier constituerait un foyer d'infestation pour les parcelles de cotonnier voisines. À contrario, nos résultats ont montré que la proportion de maïs dans le paysage n'avait pas d'effet significatif sur l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier voisines. La corrélation observée est négative et l'approche d'information théorique que nous avons utilisée pour l'analyse statistique a montré que la proportion de maïs dans le paysage était la variable la moins importante dans le classement des neuf variables utilisées dans le modèle. Ce résultat peut être expliqué par les études sur le comportement d'*H. armigera* décrit par Firempong et Zalucki (1990) (cité dans Jallow et al. 2004). Ils ont montré qu'en Australie dans les conditions naturelles, concernant la ponte, le maïs était une plante hôte préférée devant le

cotonnier. En Russie, Fefelova et Frolov (2008) ont aussi montré que *H. armigera* préférait pondre ses œufs sur maïs plutôt que sur cotonnier. En Afrique de l'ouest, Nibouche (2008) a montré que la période d'attractivité du maïs était très courte (environ deux semaines) par rapport à celle du cotonnier ou de la tomate (Fig. 13). Nous posons l'hypothèse que si les dates de semis des parcelles de maïs étaient décalées, la proportion de maïs pourrait avoir un effet négatif sur l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier voisines, ceci en attirant une part non négligeable de larves dans le paysage. Nos résultats montrent en effet que sans être significatif, la relation entre la proportion de maïs dans le paysage et l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier est négative.

Par ailleurs, nos résultats ont montré un effet significatif et positif de la proportion de végétation naturelle dans le paysage sur l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier voisines. En adoptant la définition de la complexité du paysage proposé par Thies et Tschardt (1999) selon laquelle la complexité du paysage est représentée par la proportion d'éléments naturels (végétation naturelle dans ce cas d'étude), nous avons conclu que la complexité du paysage favorisait l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonniers voisines (à la végétation naturelle). Or, dans la littérature les études montrent que la complexité du paysage est plutôt positivement corrélée au parasitisme des ravageurs et donc négativement (par feedback négatif) aux dégâts dans la parcelle (Thies et Tschardt 1999; Gardiner et al. 2009 ; Rusch et al. 2012). De même, la majorité des études concernant l'effet de la proportion de végétation naturelle sur la lutte biologique, ont montré que généralement la relation était positive. Bianchi et al (2006) ont compté 20/24 études où la relation entre la proportion de la végétation naturelle et l'activité des ennemis naturels était positive. Nos résultats s'accordent avec ceux de Bianchi et al (2006) qui ont montré que l'activité des ennemis naturels n'était pas toujours proportionnelle à une baisse du nombre de ravageurs dans une parcelle. De ce fait nous considérons comme Nibouche (1994) que la présence de *Cleome viscosa*, une adventice dans la végétation naturelle, pourrait constituer un foyer pour *H. armigera* d'infestation en attendant la floraison des parcelles de cotonnier voisines. Nous n'avons pas étudié l'abondance des ennemis naturels et donc nous ne pouvons pas statuer quant à l'activité des ennemis naturels en fonction de la proportion de végétation naturelle dans le paysage.

Pour faire le lien avec les effets des pratiques agricole sur l'infestation, à l'aide de l'approche théorique de l'information utilisée pour l'analyse statistique nous avons montré que les

pratiques agricoles étaient plus importantes que les variables paysagères pour expliquer l'infestation d'*H. armigera* dans une parcelle de cotonnier. Parmi les variables paysagères, la proportion de tomate est ressortie comme étant la variable paysagère la plus importante (importance de 96%) suivi par la proportion de cotonnier (80%) et de la végétation naturelle (71%). L'hétérogénéité du paysage (que nous avons calculé à l'aide de l'indice de Shannon) et la proportion de maïs étaient les variables paysagères les moins importantes avec une valeur relative d'importance de 54% et 42% respectivement (Partie III).

V-3-3 Abondance et origine trophique des adultes d' *Helicoverpa armigera*.

Dans la partie IV de notre travail, nous avons voulu identifier les déterminants paysagers de l'abondance et de l'origine trophique des adultes d'*H. armigera*. Deux résultats majeurs ressortent de cette analyses : i) La diversité du paysage influence l'abondance et l'origine trophique des adultes d' *H. armigera* et ii) L'origine trophique d'*H. armigera* n'est expliquée ni par la proportion du cotonnier, ni par celle du maïs dans le paysage.

L'hypothèse des ennemis naturels de Root (1973) stipule que l'activité des ennemis naturels est stimulée dans un paysage de forte diversité ce qui indirectement réduit l'abondance des ravageurs dans le paysage. Dans la littérature plusieurs méta-analyses ont confirmé cette hypothèse et ont montré de ce fait que la diversité du paysage était négativement corrélée à l'abondance des ravageurs (Bianchi et al. 2006; Gardiner et al. 2009 ; Letourneau et al. 2011). Ces études ont également montré que la validité de l'hypothèse des ennemis naturels dépendait aussi d'autres facteurs comme le climat (tropical vs tempéré), les caractéristiques nutritives de l'espèce étudiée, ravageur ou ennemi naturel (généraliste, spécialiste). Dans une autre étude, Capinera (2005) a montré que les ravageurs dont le cycle de développement dépendait aussi des espaces naturels pouvaient ne pas répondre à cette hypothèse des ennemis naturels posée par Root (1973). Dans notre étude, *H. armigera* trouve également des plantes hôtes dans la végétation naturelle (*Cleome viscosa*). De plus c'est un ravageur polyphage. *H. armigera*, bien qu'ayant une préférence pour le cotonnier, peut infester la majorité des plantes cultivées composant les paysages que nous avons étudiés. Notre étude a montré que le caractère polyphage d'*H. armigera* favorise l'adaptation de ce dernier dans tous les paysages composés de ses plantes hôtes (Partie IV). Nous n'avons pas pu dans ce cas identifier

clairement quelles étaient les plantes hôtes qui influençaient l'abondance des adultes dans le paysage. Dans notre étude, nous avons pris en compte les variables paysagères sur trois échelles : environnement immédiat (100 m), intermédiaire (250 m) et maximum (500 m). Seule l'échelle maximale de 500 m présente des résultats pertinents. Il est probable que même pour des déplacements de routine, les effets du paysage sur l'abondance d'*H. armigera* ne peuvent être captés qu'à des échelles plus larges comme chez les méligèthes décrit par Zaller et al (2008) et Rusch et al (2012) (cette hypothèse est présentée dans la section perspective ci-dessous).

Analyser des éléments du paysage qui expliquent l'origine trophique des adultes d'*H. armigera* est un atout pour ce travail de thèse. Cette analyse nous a permis d'apporter plus de précisions concernant les déplacements d'*H. armigera* et les éléments du paysage qui contribuaient le plus à l'abondance d'*H. armigera* dans le paysage. Nos résultats ne vérifient pas non plus l'hypothèse de la concentration de ressource comme l'ont déjà montré les résultats concernant l'analyse de l'abondance des adultes. Nous avons montré que bien que 75% d'individus avaient passé leur vie larvaire sur des plantes en C3 (cotonnier, tomate), seulement 10 % proviennent du cotonnier (Partie IV). La question que nous n'avons pas pu résoudre est de savoir quelle est la proportion d'individus qui provenaient de la tomate ? (Section perspective ci-dessous). Il est peu probable que les autres 90 % des 75 % issus de plantes C3 proviennent tous de la tomate. Il est donc probable qu'il existerait dans la végétation naturelle une autre source de plantes hôte de type photosynthétique C3 (*Cleome viscosa* ou autres plantes hôtes). Néanmoins nous avons observé un pourcentage de près de 25% d'*H. armigera* ayant une signature trophique C4. Nos résultats ont montré que la plante hôte susceptible d'expliquer ce résultat était le sorgho. Comme pour l'étude chez les populations larvaires, la proportion de maïs dans le paysage n'influence pas la présence des adultes d'*H. armigera*.

V-4 Quelle gestion agro-écologique pour réduire les infestations d'*Helicoverpa armigera*?

L'identification des leviers agro-écologiques pour lutter contre les ravageurs est au cœur des préoccupations actuelles. Il s'agit de mettre en place des méthodes de régulation naturelle des ravageurs qui seront des alternatives aux méthodes conventionnelles (pesticides). Ces méthodes ont pour objectif principal de stimuler les services écosystémiques de régulation. La lutte biologique par conservation et la gestion des habitats se proposent de gérer l'environnement pour favoriser les ennemis naturels et de ce fait leur activité (parasitisme, prédation) sur les ravageurs. En amont de cette méthode, nous nous sommes intéressés à la nuisibilité d'un ravageur contrairement au service de régulation réalisé par les ennemis naturels sur les ravageurs. Dans ce travail, nous avons cherché à identifier les leviers agro-écologiques qui déterminent l'installation du ravageur polyphage *H. armigera* dans les parcelles de cotonnier. Nos résultats ouvrent donc une perspective pour la gestion d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier en Afrique de l'ouest.

V-4-1 Nécessité d'une gestion concertée des pratiques entre les agriculteurs

Nous avons montré que les pratiques agricoles au niveau de la parcelle avaient un fort effet sur l'infestation d'*H. armigera* dans la parcelle de cotonnier. La date de semis et la fréquence de sarclage avaient un effet négatif sur le ravageur. Ces résultats ont montré qu'il serait judicieux pour les agriculteurs de décaler les dates de semis, de respecter la fréquence de sarclage comme pratiques capitales. De même, le précédent cultural d'une parcelle de cotonnier semble déterminer les niveaux d'infestation. Nous avons montré que les parcelles de cotonnier dont le précédent cultural était la tomate étaient les parcelles les plus infestées par *H. armigera* alors que les parcelles dont le précédent cultural était maïs étaient les moins infestées. Par ailleurs, nous avons trouvé une relation positive entre le traitement chimique et l'abondance des larves d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier. Nous estimons que la mauvaise qualité ou le sous dosage des produits chimiques appliqués peuvent être responsable des échecs des traitements.

H. armigera est caractérisée par sa capacité à se nourrir de plante hôtes diverses (polyphagie) et à se déplacer rapidement d'une parcelle à une autre. Par conséquent, la mise en place de ces pratiques agricoles dans une parcelle ne peut se faire sans impacter les parcelles voisines. Une gestion concertée entre les agriculteurs pour coordonner ensemble les pratiques agricoles s'impose.

V-4-2 La diversité en plante hôte augmente l'abondance des adultes d' *H. armigera*.

Alors que la plupart des études montrent que l'hétérogénéité du paysage en plante hôte est négativement corrélée à l'abondance des ravageurs, nos résultats vont dans le sens contraire. L'hétérogénéité du paysage est le seul facteur qui explique l'abondance des adultes ou leur origine trophique, ceci quelle que soit l'échelle excepté sur le rayon de 100 m qui correspondait au voisinage immédiat de la parcelle étudiée. La conception d'un protocole de régulation naturelle d'*H. armigera* à l'échelle du paysage doit se faire en considérant la diversité en plantes hôtes dans son ensemble et non la gestion des plantes hôtes au cas par cas même pour les plantes hôtes qui ne sont pas économiquement intéressantes, ceci afin de prévenir ou atténuer l'infestation d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier.

V-4-3 Une attention particulière pour le rôle ambivalent de la végétation naturelle.

Ce travail a mis en évidence un effet positif de la proportion de végétation naturelle sur l'abondance des larves d'*H. armigera*. Il est alors probable que la végétation naturelle observée autour des parcelles de coton soit constituée de plantes hôtes d'*H. armigera* ou tout au moins constitue un facteur qui favorise l'abondance des larves. Par conséquent, il serait intéressant d'accorder une attention particulière à la végétation naturelle bordant les parcelles de cotonnier. Les perspectives présentées ci-dessous montrent cette importance.

V-5 Quelles perspectives de recherche?

V-5-1 Des perspectives pour la mise au point méthodologique.

Les résultats de notre travail soulignent les bénéfices que peut apporter une compréhension claire des déplacements d'*H. armigera* ainsi que l'utilisation de la ressource dans un paysage agricole. Seulement, cette compréhension ne peut se faire sans la mise en place d'outils efficaces. Dans la première étape de cette thèse nous avons mis en évidence l'intérêt des marqueurs de plantes hôtes. Notre étude montre que le gossypol est un marqueur fiable du cotonnier. La méthode de détermination du gossypol sur les adultes d'*H. armigera* permet d'identifier la proportion d'individus qui ont infesté les parcelles de cotonnier. Ceci apporte par la suite une meilleure compréhension du rôle de la proportion du cotonnier dans le paysage pour expliquer l'abondance d'*H. armigera* dans un paysage. Par ailleurs, il serait intéressant de poursuivre cette étude par l'identification des marqueurs d'autres plantes hôtes. Nos résultats ont montré que la tomatine, glyco-alcaloïde spécifique à la tomate était détectable chez les larves mais pas chez les adultes d'*H. armigera*. La tomatine ne peut par conséquent pas être utilisée comme marqueur de la tomate. Notre étude ouvre cependant des perspectives intéressantes. La tomatine étant détoxifiée par *H. armigera* entre les phases larvaires et adultes, il est probable que des métabolites de la tomatine soient retrouvés chez les adultes. La mise au point d'une méthode permettant de déterminer ces métabolites enrichirait les études de dynamique des populations de ce ravageur. Elle permettrait une meilleure analyse du rôle de la proportion de la tomate pour expliquer l'abondance du ravageur dans le paysage.

Les outils d'analyse de l'origine géographique permettent de comprendre les déplacements sur de longues distances, et dans une plus grande mesure elles permettent d'analyser les mouvements migratoires des ravageurs. Notre travail de mise au point l'analyse de la flore bactérienne ou l'analyse des isotopes stables d'hydrogène a été pensé dans cette optique. Ce travail n'a pas abouti, mais les résultats encouragent la poursuite de cette étude avec toutefois des mises en garde concernant la conception du protocole d'échantillonnage sur le terrain. Nous avons montré qu'à l'aide de l'électrophorèse sur gel par gradient dénaturant (Myers et al. 1985) il était possible d'explorer la flore bactérienne hébergée par *H. armigera*. Nos résultats ont montré un fort taux de polymorphisme de la flore bactérienne hébergée par les individus analysés. Nous avons observé que ce polymorphisme bactérien pouvait être

fonction de l'origine géographique mais aussi de l'origine trophique, mais le faible nombre de sites de piégeages et par conséquent du nombre d'individus ne nous permettent pas de conclure cette étude. Nous préconisons alors pour la suite de ce travail de multiplier les sites de piégeages et le nombre d'individus à analysés afin de détecter une réelle tendance relation origine trophique/flore bactérienne ou origine géographique/flore bactérienne. Multiplier le nombre d'individus témoins et le type de témoins ajouterait une plus-value à cette étude. En effet, il faudrait considérer à la fois les facteurs origine géographique, origine trophique, âge et sexe de l'individu adulte. Le problème du nombre d'individus et de sites résolus, un protocole d'analyse statistique approprié pourrait être mis au point comme l'utilisation des dendrogrammes. En considérant chaque bande (unité de la diversité bactérienne sur le gel d'électrophorèse) comme unité statistique il serait possible de déterminer un profil bactérien type pour un site géographique ou une origine trophique à conditions que les effets de ces facteurs soient significatifs. Une perspective plus poussée serait de séquencer les bandes pour identifier les bactéries et constituer de ce fait des profils bactériens marqueurs de sites géographiques ou d'origine trophique. Parallèlement, nos études pour la mise au point de l'analyse des isotopes stables d'hydrogène ont mis en évidence la nécessité de plusieurs analyses préliminaires (partie II-2-Discussion).

L'absence d'images satellites a été un réel manque pour notre travail. En effet, en raison de la couverture nuageuse et de l'humidité pendant les pics d'infestation d'*H. armigera* dans notre zone d'étude, les images satellites SPOT commandées n'ont pas pu être prises. Il serait intéressant d'explorer l'utilisation d'autres types d'images. Ceci permettrait d'agrandir les rayons d'étude des effets des variables paysagères.

Enfin il serait intéressant d'explorer d'autres outils (partie II-1) afin de vérifier leur efficacité à décrire les déplacements d'*H. armigera* dans le contexte de l'Afrique de l'ouest. Bien que les études de Vassal et al (2008) n'encouragent pas l'utilisation des microsatsellites pour l'analyse de la dynamique, une analyse bibliographique pourrait permettre d'identifier d'autres marqueurs moléculaires et de tester l'application de ces outils sur l'analyse de la dynamique des populations d'*H. armigera* au Bénin. Par ailleurs l'utilisation des radars entomologiques comme en Chine (Feng et al. 2009) améliorerait la compréhension des déplacements longue distance de ce ravageur. Croiser les méthodes sur les mêmes sites avantagerait cette étude.

V-5-2 S'intéresser aux organismes interagissant avec *H. armigera*.

Dans notre étude, notre approche était d'identifier les variables paysagères défavorables à l'abondance d'*H. armigera*. Il serait intéressant d'intégrer à cette étude d'autres organismes en interaction biologique avec *H. armigera*. Il s'agirait d'étudier les espèces prédatrices, parasites, mutualistes ou compétitrices en interaction avec *H. armigera*. Par exemple, nous avons mis en évidence une relation positive entre la proportion de la végétation naturelle dans le paysage et l'abondance des larves d'*H. armigera* dans les parcelles de cotonnier (Partie III-2). Avant de préconiser d'éviter la végétation naturelle autour des parcelles de cotonnier, il serait intéressant d'analyser son rôle pour les populations des ennemis naturels d'*H. armigera*. Les études de Tschardtke (2000) et de Gardiner et al. (2009) ont montré que la végétation naturelle favorisait l'abondance des ennemis naturels. Nous n'avons pas étudié cet effet dans notre cas d'étude mais il est alors probable qu'elle soit également favorable aux ennemis naturels d'*H. armigera* et que par feedback positif elle favorise une régulation naturelle d'*H. armigera*. En conséquence, il serait alors important d'étudier aussi les dégâts causés par *H. armigera* dans les parcelles de cotonnier en fonction des éléments du paysage et particulièrement en fonction de la végétation naturelle.

De plus, nous avons montré que l'hétérogénéité du paysage était le facteur paysager le plus pertinent qui déterminait l'abondance des adultes d' *H. armigera* ainsi que leur origine trophique. L'hétérogénéité du paysage était en effet positivement corrélée à l'abondance des adultes (Partie IV-4). Par conséquent, une gestion intégrée de l'abondance des adultes d'*H. armigera* par l'aménagement du paysage devrait se faire en prenant en compte l'ensemble des plantes hôtes et non une plante hôte particulière. Comme pour la végétation naturelle, il est important de comprendre les effets de l'hétérogénéité du paysage sur la dynamique des populations ennemis naturels d'*H. armigera*. De même que pour les ennemis naturels, il est essentiel d'étudier le comportement des autres espèces ravageurs avec qui *H. armigera* pourrait être en compétition (par exemple, les espèces qui ont les mêmes plantes hôtes qu'*H. armigera* ou du moins qui infestent aussi le cotonnier) ou qui sont des proies/hôtes des mêmes ennemis naturels qu'*H. armigera*. Les résultats combinés de ces études pris en compte renforceraient la gestion intégrée d'*H. armigera*.

V-5-3 Identifier une résistance aux pesticides.

La gestion intégrée des ravageurs préconisent des techniques de lutte économes en produits chimique tout en privilégiant la régulation naturelle. Dans le nord du Bénin, la lutte contre les ravageurs de cotonnier et particulièrement contre *H. armigera* est essentiellement chimique. Nous avons mis en évidence une relation positive entre la fréquence d'application des pesticides et l'abondance des larves d' *H. armigera* dans une parcelle de cotonnier. Il est probable que ni les dosages ni la molécule chimique des pesticides ne sont appropriés. Mais une autre hypothèse serait celle de la présence des populations d'*H. armigera* du nord Bénin résistance aux pesticides utilisés. Il est urgent et essentiel d'étudier la résistance aux pesticides chez *H. armigera* dans cette zone d'étude afin de valider ou non cette hypothèse. Les résultats permettront de gérer efficacement les dosages et les fréquences d'application de ces pesticides, ce qui aura pour effet de réduire les risques environnementaux causés par les pesticides.

Conclusion générale

Notre objectif était de contribuer à la mise en place d'une gestion intégrée d'un ravageur polyphage *Helicoverpa armigera* dans un premier temps par une mise au point d'outils méthodologiques d'analyse de l'origine trophique et de l'origine géographique et dans un deuxième temps par une analyse des déterminants paysagers de l'abondance et de l'origine trophique d' *H. armigera* dans les parcelles de cotonnier au nord Bénin.

Les études concernant la mise au point des méthodes ont permis de confirmer que le gossypol, molécule spécifique au cotonnier pouvait être utilisé efficacement pour déterminer si un individu avait passé sa vie larvaire sur le cotonnier. Cet outil peut donc être utilisé pour déterminer le rôle du cotonnier dans un paysage sur l'abondance d'*H. armigera*. Par contre, les résultats de notre travail concernant la tomatine, molécule spécifique à la tomate, ont montré que la tomatine ne peut être utilisée comme marqueur de la tomate car elle est détectée seulement chez les larves mais pas chez les adultes. Ces résultats ouvrent néanmoins la perspective d'analyse des métabolites de tomatine chez les adultes pour en faire des marqueurs. Par ailleurs cette première partie de la thèse concernait aussi les outils d'analyse de l'origine géographique. Il s'agissait pour cette étude d'analyser la composition en isotopes stables d'hydrogène et les profils bactériens hébergés par les adultes d'*H. armigera*. Concernant ces deux derniers outils, nos résultats ouvrent d'avantage des perspectives qu'une réelle mise au point. Au cours de ce travail, nous avons mis en évidence les éléments du paysage et les pratiques agricoles qui favorisent l'abondance d'*H. armigera* et expliquent son origine trophique le long d'un gradient paysager. Nous avons analysé et hiérarchisé ces effets. Nos résultats ont montré que les pratiques agricoles sont plus importantes que les variables paysagères pour expliquer l'infestation larvaire. Les préconisations qui en découlent s'appuient sur une gestion concertée entre les agriculteurs. Ainsi, cette étude préconise de décaler les dates de semis entre les parcelles de coton pour éviter une période d'attractivité commune entre ces parcelles. Il serait préférable de respecter la fréquence de sarclage (au moins trois) et pour les rotations, privilégier tout autre rotation que celle tomate-coton. Par ailleurs, il serait judicieux de préférer un environnement paysager autour d'une parcelle de coton constitué de maïs.

De plus, nos résultats ont montré que l'hétérogénéité du paysage dans un rayon de 500 mètres est le facteur principal à prendre en compte pour comprendre l'abondance et l'origine

trophique des adultes d'*H. armigera*. L'ensemble de nos résultats apporte une note positive quant à la possibilité de mettre en place une gestion intégrée d'*H. armigera*, ceci à condition de ne pas se restreindre à l'échelle de la parcelle et d'intégrer le paysage. Seulement, cette gestion ne peut être réellement efficace qu'en prenant en compte les relations d'*H. armigera* avec son cortège d'ennemis naturels ou encore la résistance d'*H. armigera* aux pesticides. L'ensemble de ces informations collectées au travers d'études sur plusieurs sites mais également sur plusieurs années permettront de comprendre et de modéliser le comportement d'*H. armigera* dans des scénarios paysagers variés. Cette modélisation serait un support efficace pour une meilleure compréhension du comportement d'*H. armigera* et contribuerait à établir des recommandations pour une gestion intégrée et durable de ce ravageur.

Bibliographie

- Abd-Rabou S, Simmons AM. 2012. Some cultural strategies to help manage *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) and whitefly-transmitted viruses in vegetable crops. *African Entomology*, 20:371-379.
- Ahmad M. 2007. Insecticide resistance mechanism and their management in *Helicoverpa armigera* (Hubner): a review. *Journal of agricultural research*, 45:319–335.
- Akaike H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on automatic Control*, 19:716-723.
- Ammann K. 2004. The impact of agricultural biotechnology on biodiversity: Myths and facts. *Agricultural Biotechnology: Finding Common International Goals*. 16:111-117.
- Andow D.A. 1991a. Yield loss to arthropods in vegetationally diverse ecosystems. *Environmental Entomology*, 20: 1228–1235.
- Andow DA. 1991b. Vegetational diversity and arthropod population response. *Annual Review of Entomology*, 36:561-568
- Antrop M. 2000. Background concepts for integrated landscape analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 77:17-28.
- Andrewartha HG, Birch LC. 1954. The distribution and abundance of animals. University of Chicago Press, Chicago.782p.
- ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- Arneson PA, Durbin RD. 1968. Studies on the mode of action of α -tomatine as a fungitoxic agent. *Plant Physiology*, 43:683-686.
- Asante SK, Tamo M, Jackai. 2001. Integrated management of cowpea insect pests using elite cultivars, date of planting and minimum insecticide application. *African crop science journal*, 9:655-665.
- Assogba-KomLan F, Anihouvi P, Achigan E, Sikirou R, Boko A, Adje C, Ahle V, Vodouhe R, Assa A. 2007. Pratiques culturelles et teneur en éléments antinutritionnels (nitrates et pesticides) du *Solanum macrocarpum* au sud du Bénin. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and development* 7:4.
- Baker GH, Tann CR, Fitt GP. 2008. Production of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera, Noctuidae) from different refuge crops to accompany transgenic cotton plantings in eastern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*. 59:723–732.
- Baker GH, Tann CR. 2012. Mating of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera, Noctuidae) moths and their host plants origins as larvae within Australian cotton farming systems. *Bulletin of Entomological Research*, 1-11.
- Bastien PH, Esposito Vinzi V, Tenenhaus M. 2005. PLS generalised linear regression. *Computational Statistics & Data Analysis*, 48(1):17-46.
- Barbehenn RV. 2001. Roles of Peritrophic Membranes in Protecting Herbivorous Insects From Ingested Plant Allelochemical. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 47:86–99.
- Beall G. 1939. Methods of estimating the population of insects in a field. *Biometrika*, 30:422-439.
- Baudry J, Bunce RGH, Burel F. 2000. Hedgerows: An international perspective on their origin, function and management. *Journal of Environmental Management*, 60:7-22.
- Benton TG, Bryant DM, Cole L, Crick HQP. 2002. Linking agricultural practices to insect and bird populations: a historical study over three decades. *Journal of Applied Ecology*, 39:673–687.

- Betbeder A. 2012. Conception d'une méthodologie de traitement d'images spot 5 pour évaluer l'influence du paysage sur la distribution spatiale d'un insecte ravageur des cultures de coton au Bénin. Rapport de stage fin d'étude ingénieur. Rapport de stage École Supérieure des Géomètres et Topographes. Ingénieur, Le Mans, France.
- Bloem KA, Kelley KC, Duffey SS. 1989. Differential effect of tomatine and its alleviation by cholesterol on larval growth and efficiency of food utilization in *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*. *Journal of chemical ecology*, 15:387-398.
- Bergen SD, Bolton SM, Fridley JL. 2001. Design principles for ecological engineering. *Ecological Engineering*, 18:201-210.
- Bianchi FJJA, Booij CJH, Tscharrntke T. 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society of London*, 273:1715–1727.
- Bowen GJ, Wassenaar LI, Hoson K.A. 2005 a. Global application of stable hydrogen and oxygen isotopes to wildlife forensics. *Oecologia*, 143:337-348.
- Bowen GJ, Chesson L, Nielson K, Cerling TE, Ehleringer JR. 2005b. Treatment methods for the determination of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of hair keratin by continuous-flow isotope-ratio mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19:2371-2378.
- Bown DP, Wilkinson HS, Gatehouse JA (1997) Differentially regulated inhibitor-sensitive and insensitive protease genes from the phytophagous insect pest, *Helicoverpa armigera*, are members of complex multigene families. *Insect Biochem Mol Biol*. 27:625-638.
- Brattström O, Wassenaar LI, Hobson KA, Akesson S. 2008. Placing butterflies on the map - testing regional geographical resolution of three stable isotopes in Sweden using the monophagous peacock *Inachis io*. *Ecography*, 31:490-498.
- Bray F. 1994. Agriculture for developing nations. *Scientific American*, 271:30-37.
- Brevault T, Achaleke J, Sougnabe SP, Vaissayre M. 2008. Tracking pyrethroid resistance in the polyphagous bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), in the shifting landscape of a cotton-growing area: *Bulletin of Entomological Research*, 98:565-573.
- Brevault T, Nibouche S, Achaleke J, Carriere Y. 2012. Assessing the role of non-cotton refuges in delaying *Helicoverpa armigera* resistance to Bt cotton in West Africa. *Evol Appl* 5:53-65.
- Brubaker CL, Bourland FM, Wendel JE. 1999. The origin and domestication of cotton. In: CW Smith, JT Cothren, eds *Cotton: Origin, History, Technology, and Production* (Vol. 4). John Wiley and Sons, Inc., New York, pp 3-31.
- Burnham KP, Anderson DR. 2002. Model selection and multimodel inference: a practice information-theoretic approach. New York: Springer-Verlag, 2nd ed. 2002, 488 p.
- Byrne DN, Athman RJR, Rum TVO, Alumbo JCP. 1996. Localized migration and dispersal by the weevil potato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Oecologia*, 105:320-328.
- Campbell BC, Duffey SS. 1981. Alleviation of R-tomatine-induced toxicity to the parasitoid, *Hyposoter exiguae*, by phytosterols in the diet of the host, *Heliothis zea*. *Journal of chemical ecology*, 7:927-946.
- Capinera JL. 2005. Relationships between insect pests and weeds: an evolutionary perspective. *Weed science* 53:892–901.
- Carriere Y, Roff DA, Deland JP, 1995. Evolution of diapause and insecticide resistance: a test of an optimality model. *Ecology*, 76:1497–1505.
- Carrière Y, Goodell PB, Eilers-Kirk C, Larocque G, Dutilleul P, Naranjo SE, Ellsworth PC. 2012. Effects of Local and Landscape Factors on Population Dynamics of a Cotton Pest. *PLoS ONE*. 7(6): e39862.

- Cauquil J. 1985. La protection des cotonniers contre leurs ravageurs en Afrique francophone au Sud du Sahara: principe et evolution des techniques. *Coton et Fibres Tropicales* 40 :187-202.
- Cauquil J, Vaissayre M. 2000. Principaux ravageurs et maladies du cotonnier en Afrique au Sud du Sahara. Cirad-cta. ISBN: 2-87614-415-8.
- Chaplin-Kramer R, O'Rourke EM, Blitzer EJ, Kremen C. 2011. A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity. *Ecology Letters*, 14:922-932.
- Chapman JW, Reynolds DR, Smith AD, Riley JR, Pedgley DE, Woiwod IP. 2002. High-altitude migration of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to the UK: A study using radar, aerial netting and ground trap- ping. *Ecological Entomology*, 27:641–650
- Chapman JW, Reynolds DR, Smith. 2003. Vertical-Looking Radar: A New Tool for Monitoring High-Altitude Insect Migration. *BioScience*, 53:503-511.
- Chen C, Xia Q-W, Xiao H-J, Xiao L, Xue F-S. 2014. A comparison of the life-history traits between diapause and direct development individuals in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of insect science*, 14:19.
- Clobert J, Danchin E, Dhondt AA, Nichols JD. 2001. *Dispersal*. New York: Oxford University Press, 650p
- Colpitts BG, Boiteau, G. 2004. Harmonic radar transceiver design: miniature tags for insect tracking. *Antennas and Propagation, IEEE Transactions on*, 52:2825-2832.
- Conway G, Carsalade H, Peacock J, Lele U, Pineiro M, Griffon M, Hazell P. 1994. Une agriculture durable pour la sécuritéalimentaire mondiale. Paris. CIRAD-GERDAT-URPA, (Rapport du Paris version Française).
- Courade G. 1987. Une "révolution verte" pour l'Afrique? *Politique Africaine*, 26:102-109.
- Cunningham JP, Jallow MFA, Wright DJ, Zalucki MP. 1998a. Learning in host selection in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Animal Behaviour*, 55:227–234.
- Cunningham JP, West SA, Wright DJ. 1998b. Learning in nectar foraging behaviour in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecological Entomology*, 23:363–369.
- Cunningham1 JP, Zalucki MP, West1 SA. 1999. Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behaviour and control of a polyphagous pest. *Bulletin of Entomological Research*. 89:201–207.
- Czepak C, Albernaz KC, Vivan LM, Guimarães HO, Carvalhais T. 2013. First reported occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 43:110-113.
- Del Socorro AP, Gregg PC. 2001. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) pollen as a marker for studies of local movement in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Australian Journal of Entomology*, 40:257–263.
- Delamaire S. 2009. Structuration génétique des populations de tordeuse du mélèze, *Zeiraphera diniana* (Lepidoptera: Tortricidae), dans l'espace et dans le temps. PhD Thesis, Université d'Orléans, France.
- Dillon RJ, Webster G, Weightman AJ, Charnley AK. 2010. Diversity of gut microbiota increases with aging and starvation in the desert locust. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 97:69-77.
- Dingle H, Drake A. 2007. What's migration? *BioScience*, 57:113-121.
- Dormann CF, Elith J, Bacher S, Buchmann C, Carl G, Carré G, Marquéz JRG, Gruber B, Lafourcade B, Leitão PJ, Münkemüller T, McClean C, Osborne PE, Reineking B, Schröder B, Skidmore AK, Zurell D, Lautenbach S. 2012. Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, 35:001–020.

- Dosdall LM, Herbut MJ, Cowle NT, Micklich TM. 1996. The effect of seeding date and plant density on infestations of root maggots, *Detia spp.* (Ibiptera: Anthomyiidae), in canola. Canadian Journal of Plant Science, 76:169-177.
- Drake VA, Reynolds IP. 2012. Radar entomology, observing insect flight and migration. Wallingford: CABI, 512p.
- Duyck PF, Dortel E, Vinatier F, Gaujoux E, Carval D, Tixier P. 2012. Effect of environment and fallow period on cosmopolites sordidus population dynamics at the landscape scale. Bulletin of Entomological Research.102:583-588.
- Eilenberg J, Hajek A, Lomer C, 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. Biocontrol 46:387-400.
- EIU – The Economist Intelligence Unit. 2008. Country Report Benin. London.
- El Sheikha A, Condur AF, Metayer I, Le Nguyen DD, Loiseau G, Montet D. 2009. Determination of fruit origin by using 26S rDNA fingerprinting of yeast communities by PCR-DGGE: preliminary application to Physalis fruits from Egypt. Yeast, 26:567-573.
- Endersby NM, Hoffmann AA, Mckechnie, Weeks AR. 2007. Is there genetic structure in populations of *Helicoverpa armigera* from Australia? Entomologia Experimentalis et Applicata, 122:253–263.
- Eriksen AB, Selldén G, Skogen D. 1981. Nilsen S. Comparative analyses of the effect of triacontanol on photosynthesis, photorespiration and growth of tomato (C3-plant) and maize (C4-plant). Planta 152:44-49.
- ESRI 2011. ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- Fahrig L, Jonsen I. 1998. Effects of habitat patch characteristics on abundance and diversity of insects in an agricultural landscape. Ecosystems. 1:197-205.
- Fahrig L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. Annual Review of Ecology and Systematics, 34: 487–515.
- FAOstat: <http://faostat.fao.org/>
- Fefelova YA, Frolov AN. 2008. Distribution and mortality of Corn Earworm (*Helicoverpa armigera*, Lepidoptera, Noctuidae) on maize plants in Krasnodar Territory. Zoologicheskii Zhurnal, 87:634–638.
- Feng H-Q, Wu X, Wu B, Wu K. 2009. Seasonal migration of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) over the Bohai Sea. Journal of Economic Entomology, 102:95-104.
- Ferrari J, Vavre F. 2011. Bacterial symbionts in insects or the story of communities affecting communities. Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences, 366:1389-1400.
- Ferreres F, Taveira M, Gil-Izquierdo A, Oliveira L, Teixeira T, Valentan P, Simoes N, Andrade PB. 2011. High performance liquid chromatographydiode array detection electrospray ionization multi-stage mass spectrometricscreening of an insect/plant system: The case of *Spodoptera littoralis Lycopersicon esculentum* phenolics and alkaloids. Rapid communication mass spectrometrie, 25:1972–1980.
- Feyereisen R, Andersen JF, Carino FA, Cohen MB, Koener, JF. 1995. Cytochrome P450 in the house fly: structure, catalytic activity and regulation of expression of CYP6A1 in an insecticide resistant strain. Pesticide Science, 43:233-239.
- Firempong S, Zalucki MP. 1990. Host plant preferences of populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) from different geographic locations. Australian Journal of Zoology, 37:665–673.
- Fitt GP. 1989. The ecology of Heliothis in relation to agroecosystems. Annual Review of Entomology, 34:17-52.

- Fitt GP, Dillon ML, Hamilton JG. 1995. Spatial dynamics of *Helicoverpa* populations in Australia: simulation modeling and empirical studies of adult movement. *Computers and Electronics in Agriculture*, 13:177–192.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2006. Plan d'action du Sommet mondial de l'alimentation. <http://www.fao.org/docrep/003/w3548f/w3548f00.htm>
- Forman RTT. 1995. Some general principles of landscape and regional ecology. *Landscape Ecology*, 10:133-142.
- Fortin M-J, Dale MRT, Hoef JV. 2002. Spatial analysis in ecology. *Encyclopedia of Environmetrics* (ISBN 0471 899976) Ed Abdel H. El-Shaarawi and Walter W. Piegorsch □ John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2002.
- Fortin MJ, Dale M. 2005. *Spatial Analysis: A guide for ecologists*. Cambridge University Press, 365p.
- Foucart T. 2006. Colinéarité et regression linéaire. *Mathematics and social sciences*, 173:5-25.
- Friedman M. 2002. Tomato glycoalkaloids: role in the plant and in the diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:5751–5780
- Friedman M, Levin CE. 1998. Dehydrotomatine content in tomatoes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46:4571-4576.
- Gardiner MM, Landis DA, Gratton C, Difonzo CD, O'Neal M, Chacon JM, Wayo MT, Schmidt NP, Mueller EE, Heimpel GE. 2009. Landscape diversity enhances biological control of an introduced crop pest in the north-central USA. *The Ecological Society of America* 19:143–154.
- Gliessman SR. 1998. *Agroecology: Ecological Processes in Sustainable Agriculture*. Michigan: CRC Press, 1998 - 357p.
- Goodwin BJ, Fahrig L. 1998. Spatial scaling and animal population dynamics. In: *Ecological Scale: Theory and Application*/ed par Peterson D, Parker VT, New York: Columbia University Press, p. 193–206.
- Google earth 2011 and 2012. Northern Benin. Ouest Africa. DigitalGlobe 2011/2012. <http://www.earth.google.com>.
- Gouda AC. 2012. Identification de l'origine géographique des adultes de la noctuelle du cotonnier et de la tomate, *Helicoverpa armigera*, collectés au Bénin à l'aide de marqueurs moléculaires bactériens: mise au point de la technique dans les conditions du Bénin. Rapport de stage Université d'abomey-calavi, Master 2 recherche, Cotonou, Bénin.
- Gould F, Blair N, Reid M, Rennie TL, Lopez J, Micinski S. 2002. Bacillus thuringiensis-toxin resistance management: Stable isotope assessment of alternate host use by *Helicoverpa zea*: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99:16581-16586.
- Greathead DJ. 1994. History of biological control. *Antenna* 18:187–199.
- Gregg PC. 1993. Pollen as a marker for migration of *Helicoverpa armigera* and *H. punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from western Queensland. *Australian Journal of Ecology*, 18:209–219.
- Griffon M. 2002. Révolution Verte, Révolution Doublement Verte Quelles technologies, institutions et recherche pour les agricultures de l'avenir? *Mondes en développement*, 30:39-44.
- Guérin M. 2013. Introduction à la réduction des pesticides agricoles. *Enjeux, modalités et conséquences. Économie rurale*, 333:7-9.
- Gurov YB et al. 2004. Spectroscopy of super heavy hydrogen isotopes in stopped-pion absorption by nuclei. *Physics of Atomic Nuclei*, 68:491–497.

- Gurr GM, Wratten SD, Luna JM. 2003. Multi-function agricultural biodiversity: pest management and other benefits. *Basic and Applied Ecology*, 4:107-116.
- James B, Atcha-Ahowé C, Godonou I, Baimey H, Goergen G, Sikirou R, Toko M. 2010. Gestion intégrée des nuisibles en production maraîchère : Guide pour les agents de vulgarisation en Afrique de l'Ouest. Institut international d'agriculture tropicale (IITA), Ibadan, Nigeria. 120 p.
- Hackett DS, Gatehouse AG. 1982. Diapausae in *Heliothis armigera* (Hübner) and *H. fletcheri* (Hardwick) (Lepidoptera: Noctuidae) in the Sudan Gezira. *Bulletin of Entomological research*, 72:409-422.
- Hagler JR, Jackson CG. 2001. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. *Annual review of entomology*, 46:511-543.
- Hardwick DF. 1965. The corn earworm complex. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 40, 247p.
- Haynes S, Darby AC, Daniell TJ, Webster G, van Veen FJF, Godfray HCJ, Prosser JJ, Douglas AE. 2003. Diversity of bacteria associated with natural aphid populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:7216-7223.
- Head G, Jackson RE, Adamczyk J, Bradley JR, Van Duyn J, Gore J, Hardee DD, Leonard BR, Luttrell R, Ruberson J, Mullins JW, Orth RG, Sivasupramaniam S, Voth R. 2010. Spatial and temporal variability in host use by *Helicoverpa zea* as measured by analyses of stable carbon isotope ratios and gossypol residues: *Journal of Applied Ecology*, 47:583-592.
- Hedin J, Ranius T. 2002. Using radio telemetry to study dispersal of the beetle *Osmoderma eremita*, an inhabitant of tree hollows. *Computers and electronics Agriculture*, 35:171-180.
- Hobson AK, Wassenaar LI, Taylor OR. 1999. Stable isotopes (δD and δC) are geographic indicators of natal origins of monarch butterflies in eastern North America. *Oecologia*, 120: 397–404.
- Hobson KA, Wassenaar LI. 2008. *Tracking Animal Migration with Stable Isotopes*. London:UK: Academic Press, 160p.
- Hui Xiang, Gui-Fang Wei, Shihai Jia, Jianhua Huang, Xue-Xia Miao, Zhihua Zhou, Li-Ping Zhao, Yong-Ping Huang. 2006. Microbial communities in the larval midgut of laboratory and field populations of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*). *Canadian Journal of Microbiology*, 52:1085–1092.
- Jallow MFA, Matsumura M. 2001. Influence of temperature on the rate of development of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*. 36:427- 430.
- Jallow MFA, Cunningham JP, Zalucki MP. 2004. Intra-specific variation for host plant use in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): implications for management. *Crop protection*, 23:955-964.
- Johnston KA, Gatehouse JA, Anstee JH. 1993. Effects of soybean protease inhibitors on the growth and development of larval *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect physiology*. 39:657 - 664.
- Johnson JB, Omland KS. 2004. Model selection in ecology and evolution. *Trends in ecology and evolution*. 19:101–108. Jones GD, Jones SD. 2001. The uses of pollen and its implication for entomology. *Neotropical Entomology*, 30:314-349.
- Judex M, Thamm HP. 2008. IMPETUS Atlas Benin. Research Results 2000 – 2007. 3rd edition. Department of Geography, University of Bonn, Germany.
- Junfeng D, Jihong A, Chenzhu W. 2011. A host-plant specialist, *Helicoverpa assulta*, is more tolerant to capsaicin from *Capsicum annum* than other noctuid species. *Journal of insect physiology*, 45:296-300.

- Kafadaroff, G. 2008. Agriculture durable et nouvelle révolution verte. Le publieur, 292p.
- Kakimoto T, Fujisaki K, Miyatake T. 2003. Egg laying preference, larval dispersion, and cannibalism in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Annals of the Entomological Society of America, 96:793-798.
- Kamil B. 2013. MuMIn: Multi-model inference. R package version 1.9.0. <http://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Keszthelyi S, Nowinszky L, Puskas J. 2013. The growing abundance of *Helicoverpa armigera* in Hungary and its areal shift estimation. Central European Journal of Biology, 8:756-764.
- Kibblewhite MG, Ritz K, Swift J. 2008. Soil health in agricultural systems. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B : Biological Sciences, 363:685–701.
- Kissling WD, Pattermore DE, Hagen M. 2013. Challenges and prospects in the telemetry of insects. Biological Reviews doi: 10.1111/brv.12065.
- Koenning SR, Schmitt DP, Barker KR, Gumpertz ML. 1995. Impact of crop rotation and tillage system on *Heterodera glycines* population density and soybean yield. Plant disease, 79, 3:282-286.
- Kogan M. 1998. Integrated Pest Management: Historical Perspectives and Contemporary Developments. Annual review of entomology, 43:243-270.
- Kolb A, Diekmann M. 2004. Effect of environment, habitat configuration and forest continuity on the distribution of forest plant species. Journal of Vegetation Science, 15:199-208.
- Kopečný J, Mrazek J, Killer J. 2010. The presence of bifidobacteria in social insects, fish and reptiles. Folia Microbiologica, 55:336-339.
- Kranthi S, Kranthi KR, Wanjarri RR. 2002. Wound inducible defense related proteins in cotton against *Helicoverpa armigera*. Indian Journal of Entomology, 64:73-79.
- Kranthi S, Kranthi KR, Bharose AA, Syed SNA. 2005. PCR-RFLP tool for differentiating *Helicoverpa armigera* and *H. assulta* (Lepidoptera, Noctuidae). Current Science 89:1322-1323.
- Kruess A, Tscharrnke T. 1994. Habitat fragmentation, species loss and biological control. Science, 264:1581-1584.
- Kumar S, Saini RK, Ram P. 2009. Natural Mortality of *Helicoverpa armigera* (Hübner) Eggs in the Cotton Ecosystem. Journal of agricultural sciences and technologies, 11:17-25
- Kyi A, Zalucki MP, Titmarsh IJ. 1991. An experimental study of early stage survival of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton. Bulletin of Entomological Research, 81:263-271.
- Landis DA, Wratten SD, Gurr GM. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Annual Review of Entomology, 45:175–201.
- Lawo NC, Mahon RJ, Milner RJ, Sarmah BK, Higgins TJV, Romeis J. 2008. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis*-Transgenic Chickpeas and the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* in Controlling *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Applied and Environmental Microbiology, 74: 4381-4389.
- Lecoq M. 1975. Les déplacements par vol du criquet migrateur Malgache en phase solitaire : leur importance pour la dynamique des populations et la grégarisation. Thèse de Doctorat : Université de Paris XI.
- Lehman R, Lundgren J, Petzke L. 2009. Bacterial Communities Associated with the Digestive Tract of the Predatory Ground Beetle, *Poecilus chalcites*, and their modification by laboratory rearing and antibiotic treatment. Microbial Ecology, 57:349-358.

- Letourneau DK, Van Bruggen A. 2006. Crop protection in organic agriculture. In: Organic agriculture: a global perspective/ ed par Kristiansen P, Taji A, Reganold J, Wallingford: CABI, p. 93-121.
- Letourneau DK, Armbrrecht I, Rivera BS, Lerma JM, Carmona EJ, Daza MC, Scobar S, Galindo V, Gutiérrez C, Lopez SD, Mejia J, Rangel AMA, Rangel JH, Rivera L, Saavedra CA, Tores AM, Trujillo AR. 2011. Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications*, 21:9–21.
- Le Nguyen DD, Gemrot E, Loiseau G, Montet D. 2008a. Determination of citrus fruit origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacterial communities by PCR-DGGE: an application to clementine from Morocco and Spain. *Fruits*, 63:75-84.
- Le Nguyen DD, Ngoc HH, Dijoux D, Loiseau G, Montet D. 2008b. Determination of fish origin by using 16S rDNA fingerprinting of bacterial communities by PCR-DGGE: An application on Pangasius fish from Vietnam. *Food Control*, 19: 454-460.
- Li C, Xie BY. 1981. Effects of temperature and photoperiod on diapause of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Entomological Knowledge*, 18:58–61.
- Liu Z, Gong P, Li D, Wei W. 2010. Pupal diapause of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) mediated by larval host plants: pupal weight is important. *Journal of Insect Physiology*. 56: 1863–1870.
- Lorch PD, Sword GA, Gwynne DT, Anderson GL. 2005. Radiotelemetry reveals differences in individual's movement patterns outbreak and non-outbreak Mormon cricket populations. *Ecology Entomology*, 30:548-555.
- Lu ZZ, Baker G. 2013. Spatial and temporal dynamics of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera, Noctuidae) in contrasting agricultural landscapes in northwestern China. *International Journal of Pest Management*, 59:25-34.
- Luo S, Naranjo SE, Wu K. 2014. Biological control of cotton pests in China. *Biological Control*, 68:6-14.
- Mainguet AM, Louveaux A, El Sayed G, Rollin P. 2000. Ability of a generalist insect, *Schistocerca gregaria*, to overcome thioglucoside defense in desert plants: tolerance or adaptation? *Entomologia experimentalis et applicata*, 94:309–317.
- Manjunath TM, Bhatnagar VS, Pawar CS, Sithanatham, S. 1989. Economic importance of *Heliothis spp.* in India and an assessment of their natural enemies and host plants, pp. 197–228. In: *Proceedings of the Workshop on Biological Control of Heliothis: increasing the effectiveness of natural enemies*. New Delhi, India.
- Mansfield S, Elias NV, Lytton-Hitchins JA. 2003, Ants as egg predators of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australian cotton crops. *Australian Journal of Entomology*.
- Marana SR, Terra WR, Ferreira C. 2000. Purification and properties of a β -glycosidase purified from midgut cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera) larvae. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30:1139-1146.
- Marcos TF, Rejesus RS. 1992. Population dynamics of *Helicoverpa spp.* in tobacco growing areas of Ilocos Norte and La Union. *Philippine Entomologist*, 8:1227-1246.
- Martin T, Ochou GO, Djihito A, Traore D, Togola M, Vassal JM, Vaissayre M, Fournier D. 2005. Controlling an insecticide-resistant bollworm in West Africa. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 107:409-411.
- Marino PC, Landis DA. 1996. Effect of landscape structure on Parasitoid Diversity and Parasitism in Agroecosystems. *Ecological Applications* 6:276-284.
- Martinelli S, Clark PL, Zucchi MI, Silva-Filho MC, Foster JE, Omoto C. 2007. Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton fields in Brazil. *Bulletin of Entomological Research*, 97:225–231.

- Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ. 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, 277:504-509.
- Matthews M. 1999. Heliothine moths of Australia: a guide to pest bollworms and related noctuid groups. Melbourne: CSIRO PUBLISHING, 320p.
- Mazzi D, Dorn S. 2012. Movement of insect pests in agricultural landscapes. *Annals of Applied Biology*, 160:97-113.
- McLaughlin A, Mineau P. 1995. The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 55:201-212.
- McKenzie JA, Batterham P. 1998. Predicting insecticide resistance: mutagenesis, selection and response. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 353:1729-1734.
- Meehan TD, Lott CA, Sharp ZD, Smith RB, Rosenfield RN, Stewart AC, Murphy, RK. 2001. Using hydrogen isotope geochemistry to estimate the natal latitudes of immature Cooper's hawks migrating through the Florida Keys. *The condor*, 103:11-20.
- Menalled FD, Costamagna AC, Marino PC, Landis DA. 2003. Temporal variation in the response of parasitoids to agricultural landscape structure. *Agriculture, Ecosystem and Environment*. 96:29-35.
- Menhinick EF. 1964. A Comparison of some species individuals diversity indices applied to samples of field insects. *Ecology*, 859-861.
- Michel B, Togola M, Tereta I, Traore NN. 2000. La lutte contre les ravageurs du cotonnier au Mali: problématique et évolution récente. *Cahiers Agricultures*, 9:109-15.
- Mikkola K. 1971. Pollen analysis as a means of studying the migrations of Lepidoptera. *Annales Entomologici Fennici*, 37:136-39
- Millenium Ecosystem Assessment. 2005. Ecosystems and human well-being: biodiversity synthesis. (Ed. by Institute, W. R.), pp. 86. Washington DC: World Ressources Institute.
- Miller NG, Wassenaar LI, Hobson KA, Norris DR. 2011. Monarch butterflies cross the Appalachians from the west to recolonize the east coast of North America. *Biological letters*, 7:43-46
- Mironidis GK, Savolopoulou-Soultani M. 2008. Development, Survivorship, and Reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:Noctuidae) under constant and alternating temperatures. *Environmental Entomology*, 37:16-28.
- Mock VA, Creech JE, Ferris VR, Faghihi J, Westphal A, Santini JB, Johnson WG. 2012. Influence of Winter Annual Weed Management and Crop Rotation on Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*): Years Four and Five. *Weed Science*. 60:634-640
- Moore PD, Webb JA, Collinson ME. 1991. Pollen Analysis, 2nd edn. Oxford: Blackwell Science Ltd, 216p.
- Muyzer G, De Waal EC, Uitterlinden AG. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and environmental microbiology*, 59:695-700.
- Mrazek J, Strosova L, Fliegerova K, Kott T, Kopečný J. 2008. Diversity of insect intestinal microflora. *Folia Microbiologica*, 53:229-233.
- Myers RM, Fischer SG, Lerman LS, Maniatis T. 1985. Nearly all single base substitutions in DNA fragments joined to a GC- Clamp can be detected by denaturing gradient gel electrophoresis. *Nucleic Acids Research*, 13:3131-3145.
- Naseri B, Fathipour Y, Moharrampour S, Hosseiniaveh V. 2010. Nutritional indices of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, on 13 soybean varieties. *Journal of Insects Science* 10:1-14.

- Nève G, Megléc E. 2000. Microsatellite frequencies in different taxa. *Trends in Ecology and Evolution*. 15:376-377.
- Nibouche S. 1994. Cycle évolutif de *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1808) (Lepidoptera, Noctuidae) dans l'Ouest du Burkina Faso : biologie, écologie et variabilité géographique des populations. PhD Thesis, Ecole Nationale supérieure Agronomique, Montpellier, France.
- Nibouche S, Gozé E, Babin R, Beyo J, Brévault T. 2007. Modeling *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae) damages on cotton. *Environmental Entomology*, 36:15-16.
- Nibouche S. 2008. Document de synthèse présenté par Samuel NIBOUCHE pour l'obtention de l'Habilitation à Diriger des Recherches.
- Ochou GO, Matthews GA, Mumford JD. 1998. Comparison of different strategies for cotton insect pest management in Africa. *Crop Protection*, 17:735-741.
- Organisation internationale de la lutte biologique et intégrée contre les animaux et les plantes nuisibles. 1977. Vers la production intégrée par la lutte intégrée. *Bulletin, OILB/SROP*, 4. 163p.
- Orth RG, Head G, Mierkowski M. 2007. Determining Larval Host Plant Use by a Polyphagous Lepidopteran Through Analysis of Adult Moths for Plant Secondary Metabolites. *Journal of Chemical Ecology*, 33:1131-1148.
- Osborne JL, Clark SJ, Morris RJ, Williams IH, Riley JR, Smith AD, Edwards AS. 1999. A landscape-scale study of bumble bee foraging range and constancy, using harmonic radar. *Journal of Applied Ecology*, 36:519-533.
- Ouin A, Menozzi P, Coulon M, Hamilton AJ, Sarthou JP, Tsafack N, Vialatte A, Ponsard S. 2011. Can deuterium stable isotope values be used to assign the geographic origin of an auxiliary hoverfly in south-western France? *Rapid Communication in masse spectrometrie*, 25:2793-2798.
- Oztemiz S, Karacaoglu M, Yarpuzlu. 2009. Parasitization rate of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs after field releases of *Trichogramma evanescens* westwood (Hymenoptera : Trichogramidae) in cotton in Cukurova region of Turkey. *Journal of the kansas entomological society*, 82:183-193.
- Palti J. 1981. Cultural practices and infectious crop diseases, Springer verlag, Berlin, 243p.
- Papaj DR, Prokopy RJ. 1989. Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*. 34: 315-350.
- Pearson EO. 1958. The insect pests of cotton in tropical Africa. Commonwealth Institute of Entomology, London, UK.
- Pérez-Guerrero S, Gelan-Begna A, Vargas-Osuna E. 2014. Impact of *Cheiracanthium pelasgicum* (Araneae: Miturgidae) and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) intraguild predation on the potential control of cotton pest *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biocontrol Science and Technology*, 24:216-228.
- Poveda K, Martinez E, Kersch-Becker MF, Bonilla MA, Tschardt T. 2012. Landscape simplification and altitude affect biodiversity, herbivory and Andean potato yield. *Journal of Applied Ecology* 49:513-522.
- Prasifka JR, Heinz KM, Minzenmayer RR. 2004. Relationships of landscape prey and agronomic variables to the abundance of generalist predators in cotton (*Gossypium hirsutum*) fields. *Landscape Ecology* 19: 709-717.
- Priya NG, Ojha A, Kajla MK, Raj A, Rajagopal R. 2012. Host plant induced variation in gut bacteria of *Helicoverpa armigera*. *PLoS ONE* 7:1 e30768.
- Prudent P, Loko S, Vaissayre M. 2006. Les Ecoles paysannes au Bénin : une approche participative de la diffusion des messages relatifs à la protection intégrée du cotonnier. *Cahiers Agricultures* 15:100-101.

- Prudent P, Loko S, Deybe D, Vaissayre M. 2007. Factors limiting the adoption of PMI practices by cotton farmers in Benin: a particular approach. *Experimental Agriculture* 43:113-124.
- Quesnelle PE, Fahrig E, Lindsay KE. 2013. Effects of habitat loss, habitat configuration and matrix composition on declining wetland species. *Biological Conservation* 160:200-208.
- R Core Team .2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Ramaswamy, S.B. 1988. Host finding by moths: sensory modalities and behaviours. *Journal of Insect Physiological* 34: 235-249
- Rani A, Sharma A, Rajagopal R, Adak T, Bhatnagar RK. 2009. Bacterial diversity analysis of larvae and adult midgut microflora using culture-dependent and culture-independent methods in lab-reared and field-collected *Anopheles stephensi*-an Asian malarial vector. *Bmc Microbiology*, 9:96.
- Reed W, Pawar CS. 1982. Heliothis: a global problem. pp. 9–14 in Reed, W. & Kumble, V. (Eds) *Proceedings of the International Workshop on Heliothis Management*. Pantanchera, India, ICRISAT.
- Reeson AF, Jankovic T, Kasper ML, Rogers S, Austin AD. 2003. Application of 16S rDNA-DGGE to examine the microbial ecology associated with a social wasp *Vespula germanica*. *Insect Molecular Biology*, 12:85-91.
- Renou A, Téréta I., Togola M. 2011. Manual topping decreases bollworm infestations in cotton cultivation in Mali. *Crop Protection*. 30:1370-1375.
- Rhino B, Vinatier F, Thibaut C, Amour C. 2010. La dispersion des insectes, un paramètre important pour le contrôle des ravageurs. *Les Cahiers du PRAM*, 8:13-19.
- Riley JR, Armes NJ, Reynolds DR, Smith AD. 1992. Nocturnal observations on the emergence and flight behaviour of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in the post-rainy season in central India. *Bulletin of Entomological Research*, 82:243-256.
- Riley JR, Smith AD. 2002. Design considerations for a harmonic radar to investigate the flight of insects at low altitude. *Computers and Electronics in Agriculture*, 35:151-169.
- Roff, DA, Fairban D. 2001. The genetic basis of dispersal and migration, and its consequences for the evolution of correlated traits. In *Dispersal* page 191 ed: New York: Oxford University Press, 650p.
- Romeis J, Shanower TG. 1996. Arthropod Natural Enemies of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India. *Biocontrol Science and Technology*, 6:481-508.
- Romeis J, Shanower TG, Zebitz CPW. 1999. Trichogramma egg parasitism of *Helicoverpa armigera* on pigeonpea and sorghum in southern India. *Entomologia experimentalis et applicata*, 90:69–81.
- Roome RE. 1975. Activity of adult *Heliothis armigera* (Hb) (Lepidoptera, Noctuidae) with reference to flowering of sorghum and maize in Botswana. *Bulletin of Entomological Research*, 65:523-530.
- Root RB. 1973. Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological monograph*, 43:95–124.
- Roschewitz I, Hücker M, Tscharnke T, Thies C. 2005. The influence of landscape context and farming practices on parasitism of cereal aphids. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 108:218-227.
- Rusch A, Valantin-Morison M, Roger-Estrade J, Sarthou J-P. 2012. Local and landscape determinants of pollen beetle abundance in overwintering habitats. *Agricultural and Forest Entomology*. 14:37–47.

- Rusch A, Valantin-Morison M, Sarthou J-P, Roger-Estrade J. 2013. Effect of crop management and landscape context on insect pest populations and crop damage. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 166:118–125.
- Sage RF, Zhu X-G. 2011. Exploiting the engine of C4 photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 62:2989-3000.
- Sanderson FJ, Kloch A, Sachanowicz K, Donald PF. 2009. Predicting the effects of agricultural change on farmland bird populations in Poland. *Agriculture, Ecosystems Environment*, 129:37–42.
- Schaefer GW. 1976. Radar observations of insect flight. In: *Symposia of the Royal Entomological Society no. 7/ ed. Rainey RC, Insect Flight*. Oxford (United Kingdom): Blackwell. p157-187.
- Schellhorn NA, Macfadyen S, Bianchi FJJA, Williams DG, Zalucki M. 2008. Managing ecosystem services in broad acre landscapes: what are the appropriate spatial scales? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48:1549–1559.
- Schmidt MH, Tschardt T. 2005. The role of perennial habitats for Central European farmland spiders. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 105:235–242.
- Scott JG. 1999. Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29:757-777.
- Shannon CE, Weaver W. 1949. *The mathematical theory of communication*. Univ. Illinois Press, Urbana, 117 p.
- Sharma HC. 1985. Strategies for pest control in sorghum in India. *Tropical Pest Management*, 31:167–185.
- Silberbauer L, Yee M, Del Socorro A, Wratten S, Gregg P, Bowie M. 2004. Pollen grains as markers to track the movements of generalist predatory insects in agroecosystems. *International journal of pest management*. 50:165-171.
- Simpson EH. 1949. Measurement of diversity. *Nature*, 163:688.
- Sinama M, Dubut V, Costedoat C, Gilles A, Junker M, Malausa T, Martin JF, Neve G, pech N, Schmitt T, Zimmermann M, Meglec E. 2011. Challenges of microsatellite development in Lepidoptera: *Euphydryas aurina* (Nymphalidae) as a case study. *European Journal of Entomology*.
- Singh J, Sidhu AS. 1990. Present status of Heliothis on cotton and strategies for its management in Punjab, Harayana and Rajisthan. *Proceedings of the First National Workshop on Heliothis Management: Current Status and Future Strategies*. Kanpur, India.
- Slatkin M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Evolution and Systematics*, 16:393–430.
- Smith FH. 1967. Determination of gossypol in leaves and flower buds of *Gossypium*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 44:267-269.
- Smith CW, Cothren JT. 1999. *Cotton: origin, history, technology, and production*. Wiley, 872p.
- Smith AC, Koper N, Francis CM, Fahrig L. 2009. Confronting collinearity: comparing methods for disentangling the effects of habitat loss and fragmentation. *Landscape ecology*. 24:1271-1285.
- Song ZM, Li Z, Li DM, Xie BY, Xia JY. 2007. Adult feeding increases fecundity in female *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuidae). *European Journal of Entomology*, 104:721-724.
- Stephens DW. 1993. Learning and behavioral ecology: incomplete information and environmental predictability. In: *Insect Learning: Ecological and Evolutionary Perspectives* (Ed. by D. R. Papaj & A. C. Lewis), pp. 195–218. New York: Chapman & Hall.

- Sunnucks. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *TREE*, 5:199-203
- Sylvie P, Deguine S, Nibouche S, Michel B, Vaissayre M. 2001. Potential of threshold-based interventions for cotton pest control by small farmers in West Africa. *Crop Protection* 20:297-301.
- Taylor LR. 1984. Assessing and Interpreting the Spatial Distributions of Insect Populations. *Annual Review of entomology*, 29:321-357.
- Tenenhaus, M. (1998), La regression PLS, théorie et pratique Paris : Technip.
- Thies C, Tscharntke T. 1999. Landscape structure and biological control in agroecosystems. *Science*, 285:893–895.
- Thies C, Roschewitz I, Tscharntke T. 2005. The landscape context of cereal aphid–parasitoid interactions. *Proceedings of the Royal Society of London B*. 285:203–210.
- Thies C, Steffan-Dewenter I, Tscharntke T. 2008. Interannual landscape changes influence plant-herbivore-parasitoid interactions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 125:266-268.
- Tilman D, Fargione J, Brian W, D'Antonio C, Dobson A, Howarth R, Schindler D, Schlesinger WH, Simberloff D, Swackhamer D. 2001. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, 292:281-284.
- Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418:671-677.
- Tohge T, Alseekh S, Fernie AR. 2014. On the regulation and function of secondary metabolism during fruit development and ripening. *Journal of Experimental Botany*, doi: 10.1093/jxb/ert443.
- Topper CP. 1987. Nocturnal behaviour of adults of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera:Noctuidae) in the Sudan Gezira and pest control implications. *Bulletin of Entomological Research*, 77:541-554.
- Tsafack N, Menozzi P, Brevault T, Soti V, Deonchat M, Ouin A. 2013. Effects of landscape context and agricultural practices on the abundance of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in cotton fields: A case study in northern Benin. *International Journal of Pest Management*, 59:294-302.
- Tscharntke, T. 2000. Parasitoid populations in the agricultural landscape. Parasitoid Population Biology, pp 235-254 In: In: Hochberg ME, Ives AR, editors. Parasitoid population biology. Princeton University Press; Princeton
- Tscharntke T, Kruess A, Thies C. 2002. Characteristics of insect populations on habitats fragments: A mini review. *Ecological Research*, 17:229-239.
- Tscharntke TA, Klein M, Kruess A, Steffan-Dewenter I, Thies C. 2005. Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity: ecosystem service management. *Ecology Letters* 8:857–874.
- Udamale SK, Moharil MP, Ugale TB, Mankar JM. 2013. Isolation of proteinase inhibitors from okra for inhibiting the *Helicoverpa armigera* (Hubner) gut proteinases. *Indian journal of agricultural research*, 47(3).
- Vaissayre M; Cauquil J. 2000. Principaux ravageurs et maladies du cotonnier en Afrique du Sud et au Sahara. Cirad-cta, ISBN: 2-87614-415-8.
- Van Den Berg H, Cock MJW, Uduor GI. 1997. Natural Control of *Helicoverpa armigera* in Sunflower: Assessment of the Role of Predation. *Biocontrol Science and Technology*, 7:613-630.
- Vassal JM, Brevault T, Achaleke J, menozzi P. 2008. Genetic structure of the polyphagous pest *Helicoverpa armigera* (lepidoptera: Noctuidae) across the Sub-Saharan cotton belt. *Communications in agricultural and applied biological*, 73:433-437.

- Veres A, Petit S, Conord C, Lavigne C. 2013. Does landscape composition affect pest abundance and their control by natural enemies? A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 166:110–117.
- Vinatier F, Gosme M, Valantin-Morison M. 2012. A tool for testing integrated pest management strategies on a tritrophic system involving pollen beetle, its parasitoid and oilseed rape at the landscape scale. *Landscape Ecology*. 27:1421–1433.
- Walker GP, Herman TJB, Kale AJ, Wallace AR. 2010. An adjustable action threshold using larval parasitism of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in IPM for processing tomatoes. *Biological Control*, 52:30-36.
- Wassenaar LI, Hobson KA. 1998. Natal origins of migratory Monarch Butterflies at wintering colonies in Mexico: New isotopic evidence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95:15436–15439.
- Wassenaar LI, Hobson KA. 2000. Improved Method for Determining the Stable-Hydrogen Isotopic Composition (δD) of Complex Organic Materials of Environmental Interest. *Environmental Sciences and Technologies*, 34:2354-2360.
- Wassenaar LI, Hobson KA. 2003. Comparative equilibration and online technique for determination of non-exchangeable hydrogen of keratins for use in animal migration studies. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 39:211–217.
- Weisser, WW. 2001. The effects of predation on dispersal. In *Dispersal* page 181 ed: New York: Oxford University Press, 650p
- Werner RA, Brand WA. 2001. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 15:501-519.
- West JB, Bowen GJ, Dawson TE. 2010. *ISOSCAPES: Understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping*: Springer Dordrecht 511p.
- Westbrook JK, Wolf WW, Lingren PD, Raultson JR, Lopez JD, Matis JH, Eyster RS, Esquivel JF, Schleider PG. 1977. Early-season migratory flights of corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 26:12–20.
- Wezel A, Bellon S, Doré T, Francis C, Vallod D, David C. 2009. Agroecology as a science, a movement and a practice: A review. *Agronomy for sustainable development*, 29:503-515.
- Wiens JA. 2001. The landscape context of dispersal. In *Dispersal*, New York: Oxford University Press, 650p
- Wikelski M, Kays RW, Kasdin NJ, Thorup K, Smith JA, Swenson GW. 2007. Going wild: what a global small-animal tracking system could do for experimental biologists: *Journal of Experimental Biology*, 210:181-186.
- Wilby A, Thomas MB. 2002 Natural enemy diversity and pest control: patterns of pest emergence with agricultural intensification. *Ecology Letters*, 5:353–360.
- Wilcove DS, McLellan CH, Dobson AP. 1986. Habitat fragmentation in the temperate zone. *Conservation biology*, 6:237-256.
- White TCR. 1984. The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia*, 63:90-105.
- Wold H. 1966. Estimation of principal component and related models by iterative least squares, *Multivariate Analysis*/ed par Krishnaiah PR, Newyork: Academic Press, p391-420.
- Wold, H. 1975. Soft Modelling by latent variables ; the nonlinear iterative partial least squares approach. In: *Perspectives in Probability and Statistics*, ed par Gani J. (Papers in honour of M. S. Bartlett). London: Academic Press.
- Wu KM, Guo YY. 2000. The coordinated development and analysis of contributing factors of cotton bollworm resistance to insecticides in round-Bohai bay-region. *Acta Phytophysiological Sinica*, 27:173-178.

- Xu G, Guo YY, Wu KM. 1999. Analyses of pollens adhering to cotton bollworm moths (Lepidoptera: Noctuidae). *Science agricultural sinica*. 32: 63-68.
- Xu G, Wang GR, Wu KM, Guo YY. 2002. Gene flow analysis among different geographical populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) by restriction fragment length polymorphisms. *Cotton Science*, 14:352-355.
- Yu C-H, Gao X-W. 2005. Partial purification of Cytochrome P450 from *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Insect science*, 12:313-317.
- Yu FL, Wu G, Liu TJ, Zhai BP, Chen PJ. 2008. Effects of irrigation on the performance of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner), during different pupal stages. *International Journal of Pest Management*. 54:137-142.
- Zaller JG, Moser D, Drapela T, Schmöger C, Frank T. 2008. Insect pests in winter oilseed rape affected by fields and landscape characteristics. *Basic and Applied Ecology*, 9:682-690.
- Zalucki MP, Murray AH, Gregg PC, Fitt GP, Twine PH, Jones. 1994. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. Punctigera* (Wallengren) in the inland of Australia: larval sampling and host plant relationships during winter and spring. *Australia Journal of Zoology*, 42:329-346.
- Zalucki MP, Cunningham JP, Downes S, Ward P, Lange C, Meissle M, Schellhorn NA. 2012. No evidence for change in oviposition behaviour of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) after widespread adoption of transgenic insecticidal cotton. *Bulletin of Entomology Research*. 102:468-476.
- Zhang D. 2004. Lepidopteran microsatellite DNA: redundant but promising. *Trends in ecology and evolution*, 19:507-509.
- Zouache K, Raharimalala FN, Raquin V, Tran-Van V, Raveloson LHR, Ravelonandro R, Mavingui P. 2011. Bacterial diversity of field-caught mosquitoes, *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*, from different geographic regions of Madagascar. *Fems Microbiology Ecology*, 75:377-389.

Index des figures

Figure 1. Schéma présentant les cinq parties de la thèse en relation avec le cycle de vie d' <i>H. armigera</i> .	3
Figure 2. Services écosytémiques décrits dans le rapport du Millenium Ecosystem Assessment, 2005.	8
Figure 3 Présentation des quatre types de lutte biologique parmi les différentes stratégies de gestion intégrée des ravageurs. (Figure modifiée d'Eilenberg et al. 2001).	9
Figure 4. Synthèse des quatre types de lutte biologique décrits par Eilenberg et al. 2001.	11
Figure 5. Organisation du parcellaire selon Prasifka et al. 2004.	11
Figure 6. Aire de répartition d' <i>H. armigera</i> à l'échelle mondiale.	16
Figure 7. <i>Helicoverpa armigera</i> a) stade œufs, b) la chenille, c) la chrysalide, d) chrysalide femelle et mâle, e) un adulte femelle et f) adulte mâle.	18
Figure 8. Cycle de vie d' <i>Helicoverpa armigera</i> sur un cotonnier en conditions tropicales. Sans diapause, ce cycle dure environ un mois.	20
Figure 9. Prédateurs et parasitoïdes d' <i>H. armigera</i> .	22
Figure 10. photos pré et post récoltes correspondant aux paysages agricoles pendant la saison des pluies et de la saison sèche respectivement.	24
Figure 11. Carte du Bénin.	26
Figure 12. Rendements en coton-graine en Afrique de l'ouest d'après Martin et al. 2005.	29
Figure 13. Période d'attractivité des plantes hôtes d' <i>Helicoverpa armigera</i> en Afrique de l'Ouest (Modifié d'après Nibouche 2008)	32
Figure 14. Buffer de 500 m autour de chaque parcelle sélectionnée.	36
Figure 15 Photographie des individus <i>H. armigera</i> élevés au laboratoire.	38
Figure 16. Schéma descriptif du protocole des mesures d'infestation dans les parcelles de coton sélectionnées.	38
Figure 17. Photographies de pièges d'adultes d' <i>H. armigera</i> .	39
Figure 18. Schéma descriptif des différents modes de dispersion.	47
Figure 19. Carte mondiale de répartition de de $\delta^2\text{H}$.	53
Figure 20. Carte du Togo.	63
Figure 21. Valeurs des isotopes stables d'hydrogène (IsoAnalytical) en % pour les individus <i>H. armigera</i> capturés au Nord et au Sud, avant la pluie.	65
Figure 22. Résultats d'analyse d'isotopes stables d'hydrogène (IsoAnalytical).	65
Figure 23. Les cinq sites de piégeage disposés le long du gradient Sud-Nord du Bénin.	70
Figure 24. Protocole d'analyse de communautés bactériennes hébergées par <i>H. armigera</i> .	70
Figure 25. Photographie gel d'agarose 2% des fragments d'ADN amplifiés	71
Figure 26. Photographie de la DGGE réalisée sur la flore bactérienne des individus d' <i>H. armigera</i> piégés dans le Nord, des témoins <i>E.coli</i> et <i>L. plantarum</i> (Lacto), et des témoins Nord (T.Ang) et Sud (T. Sem).	73
Figure 27. DGGE réalisée sur la flore bactérienne de 4 individus témoins <i>H. armigera</i> capturés dans le Nord (Angaradébou).	74
Figure 28. Sites de piégeage disposés le long du gradient Sud-Nord du Bénin.	81

Figure 29. Dynamique temporelle des individus piégés d'août 2010 à janvier 2011 (nb total hebdomadaire d'individus piégés).....	82
Figure 30. Abondance relative entre les sites de piégeage.....	83
Figure 31. relevés d'occupation du sol sur les différents sites de piégeages (2010 et 2011)...	84
Figure 32. Indice de diversité de Shannon entre les sites de piégeage.....	84
Figure 33. Synthèse des résultats d'analyse des isotopes stables de carbone..	85
Figure 34. Abondance cumulée des larves d' <i>H. armigera</i> le long du gradient latitudinal du Bénin de 1992 à 2002.....	86
Figure 35. Map of the study area.....	99
Figure 36. <i>H. armigera</i> infestation rate (number of infested cotton plants per number of observed cotton plants) discriminated by previous land cover type.	104
Figure 37. Relative importance of predictor variables included in the multiple logistic regression models performed to predict <i>H. armigera</i> incidence.	105
Figure 38. Chromatograms for a) an <i>H. armigera</i> reared on tomato and b) standard.....	119
Figure 39. The three nested buffer sizes of radius of 100 m, 250 m and 500 m centered on each selected cotton field.	130
Figure 40. Total number of A) <i>H. armigera</i> moths trapped, B) C ₃ -moths trapped, C) C ₄ -moths trapped, D) moths positive to gossypol in 2011 and 2012.	134
Figure 41. Variable Importance in Projection (VIP) of the landscape variables investigated to predict abundance of <i>H. armigera</i>	135
Figure 42. Variable Importance in Projection (VIP) of the landscape variables investigated to predict the proportion of <i>H. armigera</i> with (A) C ₃ trophic origin and (B) C ₄ trophic origin, at the three nested spatial scales (buffers 100 m, 250m and 500m) for the two years (2011 and 2012).....	137
Figure 43. Variable Importance in Projection (VIP) of the landscape variables investigated to predict the proportion <i>H. armigera</i> which fed on cotton during their larval stage (gossypol signature), at the three nested spatial scales (buffers 100 m, 250m and 500m) for the two years (2011 and 2012).	139

Index des tableaux

Tableau 1. Synthèse de 3 méta-analyses traitant des effets de la complexité du paysage (proportion végétation naturelle) sur l'abondance des ravageurs et des ennemies naturels (prédation, parasitisme).....	15
Tableau 2. Tableau synthétique des types de paysages sélectionnés en fonction des hypothèses et du travail effectué.....	40
Tableau 3. Nombre d'individus d' <i>H. armigera</i> mâles dont les ailes ont été analysées pour déterminer les variations d'isotopes stables d'hydrogène.....	62
Tableau 4. Valeurs d'isotopes stables d'hydrogène.....	64
Tableau 5. Taille de la région V3 de l'ADN ribosomal bactérien sur différents échantillons d'insectes.....	72
Tableau 6. Calendrier cultural et cultures prédominantes sur chaque site d'étude.....	81
Tableau 7. Explanatory variables and their recorded ranges.....	101
Tableau 8. Variables of the previous crops and number of fields.....	101
Tableau 9. Model-averaged parameter estimates and standard errors, for landscape and agricultural practice variables included in the 95% confidence set of logistic regression models performed to predict <i>H. armigera</i> incidence.	104
Tableau 10. Results for tomatine and gossypol analyses.....	118
Tableau 11. The triple quadrupole mass spectrometer was run in a MRM mode with the following acquisition parameters	118
Tableau 12. Landscapes variables and their recorded ranges (in brackets) for the 37 cotton fields, at the three spatial scales (100, 250 and 500 m).....	129
Tableau 13. AIC, null deviance, residual deviance and R-squared (%) for each of the 4 GLM-PLS models performed.....	133

Table des matières

Introduction générale.....	1
Partie I : Cadre de la thèse	4
I-1 Contexte de l'étude	5
I-1-1 D'une révolution verte.....	5
I-1-2 ... A une révolution doublement verte.....	6
I-1-3 Vers des méthodes alternatives aux pesticides: les services écosystémiques.....	7
I-2 Contexte scientifique	12
I-2-1 Les propriétés écologiques du paysage.....	12
I-2-2 Approche paysagère de la lutte contre les ravageurs: Effet du paysage sur les ravageurs et leurs ennemis naturels	13
I-3 <i>Helicoverpa armigera</i> : le principal ravageur du cotonnier en Afrique subsaharienne..	16
I-3-1 Classification et aire de répartition	16
I-3-2- <i>Biologie d'Helicoverpa armigera</i>	17
I-3-2-1 Description et identification d' <i>Helicoverpa armigera</i>	17
I-3-2-2 Le cycle de vie d' <i>Helicoverpa armigera</i>	19
I-3-3 Le comportement migratoire.....	20
I-3-4 Les ennemis naturels d' <i>Helicoverpa armigera</i>	21
I-4 Le Bénin: un producteur important de coton en Afrique de l'Ouest	23
I-4-1 Présentation du Bénin	23
I-4-2 La production cotonnière : une production à haut niveau d'intrants.	27
I-4-3 Stratégies de protection actuelles du cotonnier au Bénin: la culture conventionnelle et raisonnée	28
I-5 Objectifs et démarche générale du travail de thèse.....	30
I-5-1 Objectifs du travail de thèse.....	30
I-5-2 Hypothèses de la thèse	31
I-6 Matériel et Méthodes généraux.....	33
I-6-1 Cartographie et Analyse du paysage.....	33
I-6-1-1 Cartographie des mosaïques paysagères	33
I-6-1-2 Sélection des parcelles et du gradient paysager	34
I-6-2 Les pratiques agricoles dans les parcelles de cotonnier sélectionnées.....	37
I-6-3 Élevage, comptage et piégeage d' <i>Helicoverpa armigera</i>	37
I-6-3-1 Élevage d' <i>Helicoverpa armigera</i> sur 3 sources nutritives.	37
I-6-3-2 Comptage des larves d' <i>Helicoverpa armigera</i> dans les parcelles de cotonnier	38
I-6-3-3 Piégeage des adultes d' <i>Helicoverpa armigera</i> dans les parcelles de cotonnier	39
I-6-4 Analyses au laboratoire des adultes d' <i>Helicoverpa armigera</i>	40
I-6-5 Analyses statistiques	41
I-6-5-1 Démarche générale.....	41
I-6-5-2 Problème de colinéarité et études d'écologie spatiale.....	41
I-6-5-3 Choix d'analyse : les modèles GLMM et PlsGLM.....	42

Partie II : Origine géographique des individus d'*Helicoverpa armigera* présents dans le Nord Bénin et le long d'un gradient latitudinal 45

II- 1 : Revue de littérature: les outils pour l'analyse des déplacements des insectes	46
II-1-1 Introduction	46
II-1-2 Les outils directs	49
II-1-2-1 Les progrès de la télémétrie	49
II-1-3 Les outils indirects	51
II-1-3-1 les marqueurs isotopiques	51
II-1-3-2 les marqueurs moléculaires.....	55
II-1-3-2 les autres marqueurs.....	58
I-1-4 Conclusion	60
II- 2 Mise au point méthodologique : Analyse des isotopes stables d'hydrogène pour comprendre les déplacements d' <i>Helicoverpa armigera</i> en Afrique de l'Ouest.	61
II-2-1 Objectifs de l'étude.....	61
II-2-2 Matériel et méthodes.....	61
II-2-3 Résultats.....	64
II-2-4 Discussion.....	66
II-2-4-1 Les problèmes liés à la méthode ?	66
II-2-4-2 Taille de l'échantillon	67
II-2-4-3 Manque d'individus témoins	67
II-2-5 Conclusion	67
II-3 Mise au point méthodologique: Analyse de la flore bactérienne pour déterminer l'origine géographique d' <i>Helicoverpa armigera</i>	68
II-3-1 Introduction	68
II-3-2 Matériels et Méthodes.....	69
II-3-2-1- Sites et protocole d'échantillonnage :.....	69
II-3-2-2- Protocole DGGE.....	69
II-3-3 Résultats.....	71
II-3-3-1 Amplification par PCR	71
II-3-3-2 Électrophorèse sur gel en gradient dénaturant	73
II-3-4 Discussion.....	74
II-3-5 Conclusion	76
II-4 Suivi temporel de l'abondance et origine trophique d' <i>Helicoverpa armigera</i> le long d'un gradient latitudinal au Bénin	77
II-4-1 Introduction	77
II-4-2 Matériel et Méthode.....	79
II-4-2-1 Le site d'étude.....	79
II-4-2-2 Échantillonnage, Analyse du paysage et Analyse origine trophique.....	79
II-4-2-3 Analyses des données	80
II-4-3 Résultats.....	82
II-4-3-1 Piégeage des adultes	82
II-4-3-2 Composition du paysage.....	83
II-4-3-3 Résultats analyses isotopes de carbone : origine trophique	84
II-4-4 Discussion.....	85

II-4-5 Conclusion	87
II-5 Conclusion de la partie II.....	89
Partie III : Influence du paysage et des pratiques agricoles sur l'abondance des larves d'<i>Helicoverpa armigera</i> dans les parcelles de cotonniers au nord Bénin	90
III-1 Synthèse de l'étude.....	91
III-2 Effects of landscape context and agricultural practices on the abundance of cotton bollworm <i>Helicoverpa armigera</i> in cotton fields: a case study in northern Benin.	94
III-2-1 Introduction	95
III-2-2 Materials and methods	98
III-2-2-1 Study area.....	98
III-2-2-2 Sampling design and landscape selection.....	98
III-2-2-3 Data Collection.....	100
III-2-2-4 Statistical analyses.....	102
III-2-3 Results	103
III-2-3-1 Effects of Landscape and agricultural variables on the abundance of <i>H. armigera</i> larvae:	103
III-2-3-2 Relative importance of each variable	105
III-2-4 Discussion	105
III-2-4-1 Weeding cotton field and sow later decrease the abundance of <i>H. armigera</i> larvae.	105
III-2-4-2 A strong effect of previous landcover	106
III-2-4-3 <i>H. armigera</i> was more abundant in cotton field surrounded by host plant crops	107
III-2-4-4 Which landscape design and agricultural practices can be highlighted to help improve the <i>H. armigera</i> natural management strategy?	108
Partie IV : Étude des déterminants paysagers de l'abondance et l'origine trophique des adultes d'<i>Helicoverpa armigera</i> dans les parcelles de cotonniers au nord Bénin.....	110
IV-1 Synthèse de l'étude : Mise au point des méthodes de détection de la tomatine et du gossypol chez <i>Helicoverpa armigera</i>	111
IV-2 On the use of gossypol and tomatine to determine the trophic origin of a polyphagous pest (<i>Helicoverpa armigera</i>)	113
IV-2-1 INTRODUCTION.....	114
IV-2-2 METHODS AND MATERIALS	115
IV-2-3 RESULTS	120
IV-2-4 DISCUSSION	120
IV-2-5 CONCLUSION	122
IV-3 Synthèse de l'étude: Étude des effets de la composition et de l'hétérogénéité du paysage sur l'abondance et l'origine trophique des adultes d' <i>Helicoverpa armigera</i>	123
IV-4 Does landscape composition drive the abundance and host use of the polyphagous pest <i>Helicoverpa armigera</i> in cotton-producing landscape in North Benin?	125
IV-4-1- Introduction.....	126
IV-4-2 Materials and methods	128

IV-4-2-1 Study site	128
IV-4-2-2 Landscape selection and analysis	128
IV-4-2-3 Abundance of <i>Helicoverpa armigera</i> by light trapping	130
IV-4-2-4 Trophic origin of <i>Helicoverpa armigera</i>	131
IV-4-2-5 Statistical Analyses	131
IV-4-3 Results	133
IV-4-3-1 Abundance of <i>H. armigera</i>	133
IV-4-3-2 C3 and C4 plant use of <i>Helicoverpa armigera</i>	136
IV-4-3-3 Cotton use of <i>Helicoverpa armigera</i> using Gossypol analysis	138
IV-4-4 Discussion	140
IV-4-4-1 Consider landscape variables at larger spatial scale	140
IV-4-4-2 The dominant effect of landscape diversity on <i>Helicoverpa armigera</i>	140
IV-4-4-3 A relatively weak role of the proportion of cotton	141
IV-4-4-4 A signal towards the tomato trophic origin study	141
IV-4-5 Conclusion	142
Partie V : Discussion générale et perspectives.....	148
V-1 Une difficile détection d'une migration Sud/Nord	149
V-1-1 Une absence de déplacement sud/nord du pic d'infestation	149
V-1-2 Des difficultés méthodologiques pour connaître l'origine géographique des individus au Bénin (Isotopes stables de l'hydrogène, Analyse flore bactérienne).	151
V-2 Les variables locales influençant l'abondance des larves d' <i>Helicoverpa armigera</i>	153
V-3 Les variables paysagères influençant l'abondance des adultes et des larves d' <i>Helicoverpa armigera</i>	156
V-3-1 Quelle approche paysagère pour un papillon migrateur facultatif ?	157
V-3-2 Une proportion en plantes hôtes dans un paysage explique l'infestation larvaire dans les parcelles de cotonnier.	159
V-3-3 Abondance et origine trophique des adultes d' <i>Helicoverpa armigera</i>	161
V-4 Quelle gestion agro-écologique pour réduire les infestations d' <i>Helicoverpa armigera</i> ?	163
V-4-1 Nécessité d'une gestion concertée des pratiques entre les agriculteurs	163
V-4-2 La diversité en plante hôte augmente l'abondance des adultes d' <i>H. armigera</i> . ..	164
V-4-3 Une attention particulière pour le rôle ambivalent de la végétation naturelle.	164
V-5 Quelles perspectives de recherche?	165
V-5-1 Des perspectives pour la mise au point méthodologique.	165
V-5-2 S'intéresser aux organismes interagissant avec <i>H. armigera</i>	167
V-5-3 Identifier une résistance aux pesticides.	168
Conclusion générale	169
Bibliographie.....	171
Index des figures	186
Index des tableaux	188
Table des matières	189

Valorisation du travail

Publications

Tsafack N, Menozzi P, Brevault T, Soti V, Deconchat M, Ouin A (2013). Effects of landscape context and agricultural practices on the abundance of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in cotton fields: A case study in northern Benin. *International Journal of Pest Management*, 59 (4): 294-302.

Tsafack N, Hak Kim J, Head G, Attoumbre J, Prudent P, Menozzi P, Ouin A. On the use of gossypol and tomatine to determine the trophic origin of a polyphagous pest (*Helicoverpa armigera*). *Entomology, Experimentalis et Applicata* (soumis).

Tsafack N, Alignier A, Head G, Hak Kim J, Goulard M, Menozzi P, Ouin A. Does landscape composition drive the abundance and host use of the polyphagous pest *Helicoverpa armigera* in cotton-producing landscape in North Benin? *Basic and Applied Ecology* (soumis).

Poster et communications orales

Tsafack N, Menozzi P, Brevault T, Ouin A. Is there a landscape effect on moth pest (*Helicoverpa armigera*) abundance and infestation rate in cotton fields in North Benin? OIBC. 07-10 May 2012, Lleida, Spain. Présentation orale.

Tsafack N, Alignier A, Goulard M, Menozzi P, Ouin A. Is there a landscape effect on the abundance and trophic origin of *Helicoverpa armigera* moths in cotton fields? A case study in Benin. ESA. 10-13 Nov 2013, Austin, TX USA. Oral. Présentation orale.

Tsafack N. Agro-écologie d'un ravageur: *Helicoverpa armigera* dans les parcelles de coton au Nord-Bénin ; Workshop Divecosys, 01-06 Dec 2013, Cotonou, Benin. Présentation orale.

Tsafack N, Menozzi P, Brevault T, Soti V, Deconchat M, Ouin A. Relative importance of landscapes contexts and agricultural practices to explain the abundance of *Helicoverpa armigera* larvae in cotton fields. ESA, 10-13 Nov 2013, Austin, TX USA. Poster.

Résumé

Abondance et origine trophique de la noctuelle de la tomate (*Helicoverpa armigera*) dans les paysages ruraux de production cotonnière au Nord Bénin.

Mettre en place des stratégies de lutte contre les ravageurs, indépendantes des produits chimiques est un objectif fondamental pour une protection durable des cultures contre les ravageurs et la conservation d'un environnement sain pour les populations humaines en zone rurale. L'objectif principal de ce travail était de contribuer à la mise en place d'une lutte biologique par gestion des habitats à l'échelle du paysage de la noctuelle polyphage *Helicoverpa armigera*, principal ravageur de cotonnier dans le nord Bénin. Cette thèse visait à analyser l'influence des pratiques agricoles et de l'organisation du paysage sur l'abondance et l'origine trophique de *H. armigera*. L'analyse biochimique d'individus élevés en laboratoire, nous a permis de confirmer le fait que le gossypol est un bon marqueur pour identifier les adultes qui ont passé leur vie larvaire sur le cotonnier. Au contraire de la tomatine qui ne peut être considérée comme un marqueur de la tomate car la tomatine a été détectée seulement chez les larves d'*H. armigera* et non chez les adultes. Notre étude sur le terrain au nord Bénin dans 40 parcelles, a montré que les pratiques agricoles avaient un fort effet sur l'infestation larvaire. La date de semis et la fréquence de sarclage étaient négativement corrélées à l'infestation larvaire. La proportion de cotonniers dans le paysage et celle de tomate ont influencé positivement l'infestation en larves d'*H. armigera*. Nous avons également montré qu'un précédent cultural tomate présentait une abondance larvaire en moyenne trois fois supérieur à un précédent cultural maïs. Ensuite, dans des rayons de 100 m, 250 m et 500 m, nous avons étudié les effets de la composition et de l'hétérogénéité du paysage d'une part sur l'abondance des adultes d'*H. armigera* et d'autre part sur leur origine trophique. L'hétérogénéité du paysage en plantes hôtes est le facteur paysager principal qui a influencé positivement l'abondance des adultes. Les isotopes stables de Carbone nous ont permis d'identifier les individus dont la larve s'était nourrie sur des plantes de type photosynthétique C3 (cotonniers, tomates, ...) ou C4 (maïs, sorgho, ...). L'origine trophique, plantes hôtes C3 ou C4, est reliée positivement à la proportion de plantes hôtes respectivement C3 ou C4 dans un rayon de 500m. Seulement 10% des individus ayant consommés des plantes en C3 ont été détecté positif au gossypol. La proportion de cotonniers dans le paysage ne semble pas expliquer la proportion d'individus détectés positif au gossypol. Nous formulons des propositions de gestion de l'assolement et des rotations culturales pour contribuer à la régulation d'*H. armigera*. Ainsi, il faudrait éviter que le cotonnier soit semé sur un précédent cultural tomate. Il serait important de décaler les dates de semis entre les parcelles de cotonniers voisines et de respecter la fréquence de sarclage minimale qui est de trois. Par ailleurs, il serait judicieux de préférer un environnement paysager homogène autour d'une parcelle de cotonnier, en privilégiant par exemple, le maïs.

Mots clés : protection des cultures - hétérogénéité du paysage – pratiques agricoles - plante hôte- gossypol- tomatine - isotope du carbone- maïs – sorgho – Méthodes des moindres carrés partiels.

Abstract

Abundance and trophic origin of the Cotton Bollworm (*Helicoverpa armigera*) in cotton producing farmland of North Benin

The development of strategies independent of pesticides is a fundamental objective for sustainable crop protection against pests as well as for maintaining of a healthy environment for human populations. The rationale of the research presented here was to improve our ability to control the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* by non-pesticide methods via habitat conservation. We analyzed the influence of agricultural practices and landscape composition and diversity on the abundance and trophic origin of *H. armigera* and assessed gossypol and tomatine in individual *H. armigera* as cotton and tomato biomarkers respectively. Gossypol was shown to be a stable cotton biomarker, even in adult *H. armigera* 12 days after emergence. In contrast, tomatine was only detected in larvae of *H. armigera* and not adults; thereby tomatine can not be considered as a marker of tomato plants. Subsequently, in north Benin, the abundance of *H. armigera* larvae and adults was monitored in cotton fields. We found a strong effect of agricultural practices on *H. armigera* larvae abundance. Delay sowing date and increase frequency of weeding reduced the abundance of *H. armigera* in cotton fields; whereas the proportion of cotton and tomato in the landscape increased. This study also highlights the role of the previous landcover in the infestation of a cotton field: A previous tomato landcover increased infestation three times more than a previous maize landcover. At nested scales ranging from 100 m, 250 m to 500 m, we studied the effects of landscape composition and diversity firstly on the abundance of adult *H. armigera* and secondly on their trophic origin. We found that, landscape diversity was the main factor that influenced both the abundance adult and their trophic origin at 500 m scale. Analyses of stable isotopes of Carbon showed that proportion of hosts plants with C3 photosynthetic pathway in the landscape was positively related to *H. armigera* moths with C3 trophic origin signal at 500 m scale. Only 10% of moths were positive to gossypol signal. The proportion of cotton in the landscape seems not important to explain the trophic origin of individual which were positive to gossypol signal. Therefore, for integrated management of *H. armigera* our results suggest it is necessary to consider the following agricultural practices and crop diversity regimes (in regard to the resource use strategies of this polyphagous pest). A tomato previous landcover should be avoid; shift sowing date between cotton fields, and have at less three manual weedings. In additional, we suggest employing maize around cotton fields rather than other crops.

Keys words: Crop protection – landscape diversity - agricultural practices – pest sustainability – gossypol – tomatine – stable Carbon isotopes – maize – sorghum – partial least square.